АКАДЕМИЯ НАУК СОЮЗА ССР

МИКРОБИОЛОГИЯ

ЖУРНАЛ ОБЩЕЙ, СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ
И ПРОМЫШЛЕННОЙ МИКРОБИОЛОГИИ

ТОМ XXI. ВЫП. 2

МАРТ—АПРЕЛЬ

12 JUL

ИЗДАТЕЛЬСТВО АКАДЕМИИ НАУК СССР
МОСКВА

1952

МИКРОБИОЛОГИЯ

Редактор чл.-корр. АН СССР А. А. Имшенецкий

Секретарь Я. И. Раутенштейн

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

И. Д. Иерусалимский, Н. А. Красильников,
Е. Н. Мишустин, К. И. Рудаков, М. В. Федоров, В. Н. Шапошников

ПО ВСЕМ ВОПРОСАМ ПОДПИСКИ НА ЖУРНАЛ «МИКРОБИОЛОГИЯ» ОБРАЩАТЬСЯ ПО АДРЕСУ: МОСКВА, Б. ЧЕРКАССКИЙ ПЕР., 2 КОНТОРА «АКАДЕМКНИГА»

Рукописи направлять по адресу:
Москва, Волхонка, 14, Издательство Академии Наук СССР,
редакция журнала «Микробиология»

КОРИФЕЮ НАУКИ, ВЕЛИКОМУ ЗНАМЕНОСЦУ МИРА, ЗОДЧЕМУ КОММУНИЗМА ТОВАРИЩУ СТАЛИНУ

Приветствие товарищу Сталину от участников конференции по направленной изменчивости и селекции микроорганизмов

Участники конференции по направленной изменчивости и селекции микроорганизмов шлют Вам, выдающемуся деятелю науки, другу советских ученых, слова горячего, сердечного привета.

Огромную и почетную роль Вы отводите передовой советской науке в строительстве коммунизма. Благодаря Вашим руководящим указаниям все более и более повышается значение науки в жизни Советского государства, усиливается непосредственное преобразующее влияние науки на природу. Никогда еще наука не имела таких исключительно благоприятных условий для своего расцвета, как сейчас, в период триумфального шествия нашей великой Родины по пути к коммунизму.

Вы учите нас отбрасывать реакционное, устаревшее, отжившее, открывать дорогу новому. Вы указываете на необходимость развивать науку быстрыми темпами и давать народу эффективные результаты научных исследований. Вы подчеркиваете, что никакая наука не может развиваться и преуспевать без борьбы мнений, без свободы критики.

Эти руководящие указания легли в основу работы нашей конференции, которая поставила своей задачей подвести итоги проделанной за последние годы работе по направленной изменчивости и селекции микроорганизмов и наметить пути дальнейшего творческого развития мичуринского учения в микробиологии для получения практически ценных форм микроорганизмов.

Советские микробиологи на большом фактическом материале показали, что изменение природы микроорганизмов путем изменения условий их существования является ведущим методом создания хозяйственно важных видов микроорганизмов. Тем самым было полностью подтверждено превосходство мичуринской биологии над реакционным вейсманизмом-морганизмом.

Мы, советские микробиологи, сознаем ту огромную ответственность, которую несем перед страной в деле активного участия в разрешении задач, поставленных перед нами Сталинской эпохой построения коммунизма, эпохой борьбы за мир, демократию и подлинный гуманизм.

Мы полны решимости отдать все свои силы и знания реализации этих великих благородных целей передовой советской науки.

Желаем Вам, горячо любимый Иосиф Виссарионович, многих и многих лет жизни и здоровья на благо и во славу Советской Родины.

Да здравствует наш вождь и учитель, корифей передовой науки — великий Сталин!

НЕКОТОРЫЕ НАБЛЮДЕНИЯ НАД «ЗЕЛЕНОЙ БАКТЕРИЕЙ»

Г. Г. Винберг и Т. Н. Сивко

«Зеленой бактерией» некоторые авторы называют весьма интересный и своеобразный организм, который развивается в огромном количестве в воде прудов, заполненных городской сточной жидкостью, придавая ей во время своего массового развития интенсивно зеленую окраску (Захаров и Константинова [3]; Мейен [6]).

Это явление регулярно наблюдается на прудах Люблинских и Люберецких полей орошения Москвы. В работе, посвященной изучению процесса самоочищения сточной жидкости, Захаров [3], обсуждая возможную систематическую принадлежность зеленой бактерии, отмечает полную неизученность этой никем до него не описанной формы. Он предположительно относит ее к неопределенной группе Chlorobacteriaceae, предложенной Лаутерборном и исследованной Перфильевым [7]. Вместе с тем Захаров устанавливает, что данная бактерия не может быть идентифицирована ни с одним из описанных видов этой группы. Нет, очевидно, никаких оснований для сближения этой совершенно своеобразной формы с изученными Перфильевым анаэробными зелеными бактериями.

Особый интерес зеленая бактерия приобретает, после того как Годневым на материале, доставленном ему авторами этой статьи, было показано, что зеленая бактерия содержит не бактериохлорин, как все изученные до сих пор представители бактерий, а типичный хлорофилл. Подробно относящиеся к этому вопросу данные изложены в специальной статье (Годнев и Винберг [2]). Здесь достаточно указать, что в теле данной бактерии хлорофилл *a* и хлорофилл *b* находятся в том же соотношении, что и у зеленых растений [4, стр. 95]. Анализы показали также, что «зеленая бактерия» содержит значительные количества каротина и ксантофилла, также в обычном для зеленых растений соотношении. Нахождение типичного хлорофилла у представителя бактерий имеет большой общебиологический интерес, поскольку отсутствие хлорофилла у бактерий считается одним из основных диагностических признаков этой группы, входящих в ее общую характеристику (Красильников [4]).

Хотя еще, начиная с работ Энгельмана в восьмидесятых годах прошлого века, в литературе можно встретить отдельные и разрозненные указания на существование зеленых бактерий, способных к фотосинтезу с выделением кислорода, этот вопрос до сих пор остается совершенно невыясненным. Поэтому здесь уместно упомянуть некоторые литературные данные последнего времени, которые могут быть полезны при дальнейшей разработке вопроса.

В 1941 г. Мэннингом и Джеди (Manning a. Juday [11]) был опубликован весьма интересный случай значительного накопления хлорофилла в воде небольшого болотного озера с резко выраженной термической стратификацией и стойкими анаэробными условиями в гиполимнионе. Фитопланктон озера в это время имел вид «чистой культуры» развитого в массовом количестве бактериоподобного организма в виде окруженных слизью одиночных палочек длиной 2 μ. Более подробно своеобразные условия в данном озере описаны в другом сообщении Даттон и Джеди (Dutton a. Juday [9]), где авторы называют наблюдавшийся ими микроорганизм Pelogloea bacillifera Lauterb., ссылаясь на определение Прескота, который руководствовался монографией Гюбер-Песталоцци (Huber-Pestalozzi [10]). Массовое развитие того же организма в металимнионе другого озера при сходных условиях специально описано в самое последнее время Ньюкомбом (Newcombe [12]).

Замечательно, что в обоих случаях наибольшее развитие этой формы наблюдалось в лишенных кислорода слоях воды при ничтожной освещенности, практически в темноте (в первом случае специальные измерения показали, что на глубине 6 м освещенность составляла всего одну стотысячную от освещенности поверхности). Авторы в тексте отмечают, не приводя, впрочем, цифровых данных, что образцы воды, взятые с глубины 10 м и окрашенные в изумрудно-зеленый цвет благодаря массовому развитию в этих слоях Pelogloea, после аэрации при полном освещении обнаруживали способность к фотосинтетическому выделению кислорода. Очень трудно согласовать это утверждение не только с тем, что известно о фотосинтезе зеленых серных бактерий, но и с тем, что в описываемом случае в поверхностных слоях воды содержание кислорода, несмотря на массовое присутствие данного микроорганизма, вовсе не было велико, а в мета- и гиполимнионе и вовсе отсутствовало.

Кроме того, очень сомнительно, действительно ли речь идет о Pelogloea bacilli-

fera, т. е. об анаэробной серной бактерии, описанной Лаутерборном. Лаутерборн описал иловую, а не планктонную форму, к тому же не одиночную, а образующую большие слизистые колонии [1].

К сожалению, авторы цитированных выше работ не останавливаются на описании наблюдавшейся ими в планктоне озер формы. Тем не менее, понимая интерес этого, по их мнению, промежуточного между водорослями и бактериями микроорганизма, они приводят результаты детального изучения пигментов. Замечательно, что полученная ими спектрограмма хлорофилла [9] практически не отличается от соответствующей кривой для описываемой в данной статье зеленой бактерии [2].

С зеленой бактерией авторы встретились при изучении Белорусским санитарным институтом процесса самоочищения городской сточной жидкости гор. Минска. В лужах и прудах на городских полях фильтрации, образованных застоявшейся сточной жидкостью, в массах встречается зеленая бактерия, подобно тому как это имеет место на московских полях орошения. Для систематического наблюдения за процессом самоочищения сточной жидкости в условиях пруда на полях фильтрации был специально создан непроточный пруд путем избыточного заполнения неочищенной сточной жидкостью одной карты. Непроточность пруда дала возможность проследить закономерную смену стадий самоочищения и, в частности, получить некоторые данные, характеризующие особенности зеленой бактерии и ее роль в этом процессе.

Не останавливаясь здесь на изложенных в другом месте результатах наблюдений над самоочищением пруда, приведем только некоторые общие итоги их в той мере, в какой они позволяют осветить особенности зеленой бактерии и ее роль в процессе самоочищения.

Пруд из неочищенной сточной жидкости Минска был заполнен 2. VII. 1950 г. Первый преимущественно анаэробный период самоочищения пруда продолжался всего неделю, в конце которой началось очень быстрое снижение БПК [2], возможное только за счет весьма интенсивной фотосинтетической реаэрации, благодаря развившимся к тому времени в большом количестве зеленым водорослям (Euglena viridis Ehrb., E. acus Ehrb., Spondylomorum quaternarium Ehrb., Micrococcinium pusillum Fresen, Scenedesmus opoliensis Richter., S. quadricauda (Turpin) и др. [3] К концу второй недели $БПК^{4}_{5}$ достигла минимума (23 мг O_2). Одновременно шло возрастание биомассы планктона, достигшей к концу этого периода очень больших величин (свыше 110 мг/л органического вещества).

Вскоре началось массовое развитие коловраток (Brachionus calyciflorus Pall. (B. pala Ehrb.), B. angularis Gosse и Filinia longiseta (Ehrb.) и рачков (Moina rectirostris (F. Leyd.), весьма типичных для подобных условий. Это вызвало падение общей биомассы планктона вследствие выедания водорослей зоопланктоном.

После первого массового развития зоопланктона в фитопланктоне пруда наряду с зелеными водорослями появилась и зеленая бактерия, которая быстро достигла массового развития. Одновременно происходило обеднение качественного состава зеленых водорослей, и к началу августа в планктоне пруда не осталось ни одного развитого в заметном количестве вида водорослей. К этому времени в пруду, безраздельно господствовала зеленая бактерия, массовое развитие которой вновь повысило биомассу планктона до 100 мг/л органического вещества и выше.

---

[1] Выраженное нами сомнение превращается в уверенность, после того как стало известно, что на основании новых годичных наблюдений, проведенных на том же озере (оз. Содон), культур, выведенных из одной клетки, электронно-микроскопических исследований и изучения пигментов той же бактерии, была написана специальная диссертация, посвященная этой форме, в которой она именуется уже Chlorobium limicola. Бактерия описывается как неподвижная палочка $1 \times 0{,}5$ μ, развивающаяся в анаэробных условиях в присутствии сероводорода и света [Бикнелл (Bicknell [8])]

[2] Биологическая потребность в кислороде.

[3] Определения проведены П. С. Томчиной под руководством О. Д. Акимовой.

[4] Пятисуточная биологическая потребность в кислороде.

Позднее, в августе, наряду с зеленой бактерией вторично развилась в заметном количестве E. viridis. Вследствие постепенного просачивания в грунт и испарения воды пруд, первоначально имевший глубину около 0,5 м, постепенно мелел и во второй половине августа значительно сократился в объеме. С этого времени начался последний период как бы искусственного сгущения планктона в оставшемся малом объеме воды. К концу августа биомасса планктона достигла огромных величин (свыше 1500 мг/л органического вещества), слагаясь, как показано ниже, практически целиком за счет зеленой бактерии.

Обращает на себя внимание, что зеленая бактерия не явилась первым зеленым организмом в планктоне пруда, а пришла на смену зеленым водорослям уже после того, как БПК достигла минимальных величин, в воде в дневные часы появилось много кислорода, аммиак снизился почти до уровня, на котором он оставался до конца наблюдения (7—9 мг/л), развился зоопланктон, т. е. после того, как был закончен первый цикл самоочищения. Интересно, что такая последовательность имела место, несмотря на то, что при заполнении пруда в него поступило огромное количество зеленой бактерии из большой лужи с интенсивно зеленой водой, занимавшей часть ложа пруда.

Массовое развитие зеленой бактерии окрашивало пруд в характерный изумрудно-зеленый цвет. О количестве ее в воде возможно судить по результатам прямого счета, так как несомненно, что в количественном отношении значение всех прочих бактерий было относительно ничтожно. Бактериоскопически флора воды выглядела как чистая культура. Относительно малые величины дали и определения «общего количества бактерий» по числу колоний на МПА при 37°, произведенные в микробиологической лаборатории института. 14.VIII было получено 425 000 и 21.VIII — 21 000 клеток в 1 мл. Коли-титр соответственно равнялся 0,01 и 0,1.

Общий счет производился на препаратах, приготовленных по методу Кузнецова и Карзинкина [5], без излишнего в данном случае предварительного концентрирования бактерий. Полученные результаты приведены в табл. 1 и 2.

Таблица 1

Общее количество бактерий в воде пруда

№ наблюдения	Дата	Количество бактерий в млн/мл	№ наблюдения	Дата	Количество бактерий в млн/мл
11	26.VII	112	15	4.VIII	382
12	28.VII	495	16	7.VIII	322
13	31.VII	487	17	9.VIII	525
14	2.VIII	495			

Таким образом, появившись в определенный момент созревания пруда, зеленая бактерия быстро достигла массового развития, при котором количество ее выражалось сотнями миллионов в 1 мл, и удержалась на этом уровне до последнего периода резкого сокращения объема воды в пруду, когда число бактерий вновь начало возрастать, достигнув к концу августа огромной величины — 11 млрд. в 1 мл. (табл. 2). По данным Захарова, полученным прямым счетом бактерий в камере для счета кровяных телец, в прудах люблинских полей орошения, при массовом развитии этой формы, число клеток доходило до 360 млн. в 1 мл, т. е. вы-

ражалось величиной того же порядка, что и в нашем случае, исключая последний период «сгущения». Колебания общего числа бактерий в подопытном пруду были явно связаны со вспышками развития коловраток и рачка Moina, которые, как показали лабораторные наблюдения, прекрасно развиваются на этой пище. По всем данным, развитие зоопланктона в пруду ограничивалось отнюдь не недостатком пищи, бывшей в избытке, а чрезвычайно трудными кислородными условиями в ночное время.

Исключительно сильное развитие зеленой бактерии приводило к очень большой общей биомассе планктона при чрезвычайно высокой интенсивности фотосинтеза. То, что именно зеленая бактерия была ответственна за столь высокую биомассу планктона и интенсивный фотосинтез, нетрудно было доказать следующим образом. Перед определением биомассы планктона и интенсивности фотосинтеза вода пруда профильтровывалась через «предварительный» мембранный фильтр, практически пропускающий только бактерий. Систематические сопоставления на протяжении всего августа показали, что биомасса планктона и интенсивность фотосинтеза почти или вовсе не отличались от соответствующих величин для нефильтрованной воды. Следовательно, в августе зеленая бактерия была практически единственным зеленым организмом планктона, определявшим кислородный режим и активную реакцию воды, а следовательно, и весь круговорот веществ и ход самоочищения пруда. Днем за счет интенсивного фотосинтеза поверхностные слои воды были очень сильно перенасыщены кислородом, например, 9. IX в 14 часов содержание кислорода в поверхностной воде пруда равнялось 23,94 мг/л, или 257%. Соответственно в дневное время происходило очень сильное подщелочение воды. В лабораторных условиях 10.IX при стоянии воды пруда в открытом аквариуме на окне с 11 до 14 часов 30 минут содержание кислорода от 0 поднялось до 33,16 мг/л, что соответствует при температуре опыта (19°) 356% насыщения. Одновременно активная реакция поднялась до очень высоких значений (выше pH = 11). Уже наблюдения за содержанием кислорода в пруду во время массового развития зеленой бактерии убеждают, что в противоположность бактериальному фотосинтезу зеленых анаэробных бактерий, идущему за счет сероводорода или других донаторов водорода, без освобождения свободного кислорода, фотосинтез в данном случае, в соответствии с наличием типичного хлорофилла, идет по типу обычного фотосинтеза зеленых растений с выделением кислорода. Этот факт, впервые установленный Олифан в 1944 г. на люблинских полях орошения, ярко проявился и в наших лабораторных наблюдениях.

Интенсивность фотосинтеза определялась в лабораторных условиях при рассеянном дневном свете обычным методом — по разности содержания кислорода в незатемненных и затемненных склянках после кратковременной экспозиции их (30 минут, 1 час). Полученные таким путем величины значительно различались в разные дни наблюдения, что явно было связано с какими-то неучтенными моментами. Большей частью интенсивность фотосинтеза была в пределах 5—9 мг/л O_2 за час, но 21.VIII наблюдалась рекордно высокая скорость фотосинтеза, а именно при трех повторениях: 34,37; 33,90; 34,87 мг/л O_2 в час при 19°. Даже если оставить в стороне этот случай, интенсивность фотосинтеза планктона при массовом развитии зеленой бактерии, выражающаяся многими десятками миллиграммов или даже сотнями миллиграммов за сутки, намного превосходит все наиболее высокие из известных величин интенсивности фотосинтеза планктона природных водоемов. В последних, даже при наиболее сильном цветении, интенсивность фотосинтеза лишь очень редко выходит за пределы 10 мг/л O_2 за сутки (а не за час!)

Общее количество хлорофилла, накапливающееся в воде за счет массового развития зеленой бактерии, также может достигать весьма высо-

ких значений, например 2 мг/л и больше. Сопоставление количества хлорофилла с интенсивностью фотосинтеза показывает, что фотосинтетическая активность хлорофилла, выражаемая, например, ассимиляционным числом, и в данном случае находится на уровне, обычном для планктона естественных водоемов и высших растений. Относительное же количество хлорофилла в теле бактерий, которое может быть получено по результатам наблюдений в последний период «сгущения» планктона, оказывается пониженным. По данным табл. 2, в среднем оно равно 0,77% от органического вещества.

В литературе принято, что содержание хлорофилла в морском и пресноводном фитопланктоне составляет 3% от органического вещества. Для пресноводного планктона в целом было найдено, что содержание хлорофилла в среднем составляет 1% от органического вещества при больших отклонениях в отдельных случаях (Винберг и Захаренков [1]).

Таблица 2

Общее количество бактерий, биомасса планктона и содержание хлорофилла в планктоне в последний период существования пруда

№ наблюдения	Дата	Биомасса планктона в мг/л орг. вещества	Количество бактерий в млн/мл	Хлорофилл		Биомасса одной бактерии в мг орг. вещества
				в мг/л	% от орг. вещества	
18	14.VIII	151	1195	1,15	0,76	$0{,}126 \cdot 10^{-9}$
19	17.VIII	322	2860	2,32	0,72	$0{,}113 \cdot 10^{-9}$
20	21.VIII	483	3980	—	—	$0{,}121 \cdot 10^{-9}$
21	24.VIII	636	6140	4,8	0,75	$0{,}104 \cdot 10^{-9}$
22	28.VIII	800	7360	—	—	$0{,}109 \cdot 10^{-9}$
23	31.VIII	1080	11320	9,1	0,84	$0{,}095 \cdot 10^{-9}$
Средние . . .		—	—	—	0,77	$0{,}111 \cdot 10^{-9}$

Примечания. 1. Биомасса планктона определена по разности результатов хромовой окисляемости сухого остатка воды, профильтрованной через „предварительный" мембранный фильтр, и воды, профильтрованной через мембранный фильтр № 3.

2. Хлорофилл любезно определен спектроколориметрически в лаборатории Годнева в Академии Наук БССР.

По данным табл. 2 возможно рассчитать и количество органического вещества, приходящееся на одну бактерию. В среднем оно равно $0{,}111 \cdot 10^{-9}$ мг. Примерно получения такой величины и следовало ждать, исходя из размеров клетки и принимая содержание воды в ней 80%.

Настойчивые попытки выделить чистую культуру зеленой бактерии, предпринятые в бактериологической лаборатории Белорусского санитарного института, до сих пор не привели к положительным результатам, аналогично тому как не удались они и у микробиологов, наблюдавших эту форму на московских полях орошения. На обычных средах (МПА и др.) зеленая бактерия не дает роста. При попытках подобрать элективную среду для жидких культур на некоторых испробованных средах был получен обильный рост, который, однако, не удалось поддержать при дальнейших пассажах. Все же при этом были получены некоторые совершенно определенные результаты, заслуживающие упоминания, поскольку они характеризуют особенности этой своеобразной формы.

Интересно, что на фильтрате воды пруда, после мембранного фильтра № 3, значительный рост — до явно зеленой окраски среды и характерного темнозеленого скопления осевших бактерий на дне пробирки — на-

блюдался только после предварительной обработки фильтрата активированным углем. При добавлении малых доз хлористого аммония из расчета 25 мг азота на 1 л и двузамещенного фосфорнокислого натрия (10 мг Р на 1 л) рост усиливался. Примерно такой же значительный рост наблюдался на среде, приготовленной путем добавления тех же солей в той же концентрации и следов железа к водопроводной воде. При меньших количествах хлористого аммония рост был заметно слабей. Бо́льшие концентрации не испытывались. При замене хлористого аммония в качестве источника азота азотнокислым калием в эквивалентных по азоту количествах непригодность иона NO'_3 в качестве источника азота для зеленой бактерии выступала очень ярко при всех испытанных комбинациях.

Не менее отчетливо было выражено предпочтение щелочной реакции, достигавшейся добавлением к среде $CaCO_3$, и отсутствие роста в кислой среде (pH = 5,7). Особенно же интересно, что добавление к оптимальным средам весьма малых количеств глюкозы (10 и 100 мг/л) делало их непригодными для роста зеленой бактерии. Напомним, что и в подопытном пруду массовое развитие этой бактерии сменило массовое развитие зеленых водорослей, т. е. наступило только после переработки легкоокисляющихся органических веществ сточной жидкости.

Морфологически наблюдавшаяся нами бактерия вполне соответствовала описанию Захарова [3] и представляла собой одиночную, неподвижную, грамотрицательную очень короткую палочку около 0,5—0,7 μ длины и почти такой же ширины.

Во многих отношениях зеленая бактерия представляет выдающийся интерес. Прежде всего следует вспомнить, что, в отличие от всех прочих известных до сих пор бактерий, она содержит типичный хлорофилл. Затем, как показано выше, в некоторых условиях она играет решающую роль на определенной стадии процесса самоочищения вод. Вполне возможно, что эта форма широко распространена также и в чистых естественных водоемах, так как при обычных методах бактериологического исследования наличие ее в столь массовом количестве, как в описанных специфических условиях, не может быть обнаружено. В этом случае значение ее в процессе биотического круговорота может быть очень велико. Наконец, после овладения методами культивирования этой бактерии она могла бы послужить незаменимым первым звеном пищевой цепи при массовом разведении кормовых организмов для выращивания молоди рыб, что, как известно, в настоящее время в связи с грандиозным гидростроительством является очень актуальной и еще не разрешенной до конца проблемой.

Все изложенное выше показывает, что зеленая бактерия с различных точек зрения заслуживает внимательного изучения. Настоящее сообщение и преследует цель привлечь внимание к этому своеобразному и интересному микроорганизму, который заслуживает названия хлорофиллоносной бактерии — Bacterium chlorophyllophorum.

Выводы

1. В прудах, заполненных сточной жидкостью гор. Минска, развивается в массовом количестве зеленая бактерия, ранее описанная под этим названием для аналогичных условий на московских полях орошения.

2. Массовое развитие зеленой бактерии наступает не с момента образования пруда, а после первого периода окисления и переработки легкоусвояемых органических веществ сточной жидкости и сопровождается выпадением из планктона зеленых водорослей, обильно развитых в предшествующий период.

3. Количество зеленой бактерии в период ее массового развития, найденное прямым счетом, удерживается на уровне сотен миллионов в миллилитре, несмотря на выедание ее зоопланктоном.

4. В период развития зеленой бактерии общая биомасса планктона, достигающая очень больших величин, слагается исключительно или почти исключительно за счет биомассы данной бактерии ($0{,}111 \cdot 10^{-9}$ мг органического вещества на клетку).

5. Зеленая бактерия, содержащая, в отличие от прочих бактерий, не бактериохлорин, а типичный для зеленых растений комплекс пигментов, в период массового развития ответственна за исключительно интенсивный фотосинтез, идущий с выделением кислорода. В этих условиях жизнедеятельность этой формы полностью определяет кислородный режим, активную реакцию воды и вообще весь круговорот веществ и ход самоочищения пруда.

6. Исключительные особенности зеленой бактерии, в первую очередь способность не к бактериальному, а к обычному для зеленых растений фотосинтезу, ее значение в процессах самоочищения и возможное широкое распространение в природе выдвигают необходимость тщательного изучения микробиологическими методами и точного описания этого почти не изученного своеобразного микроорганизма.

Белорусский санитарный институт
Минск

Получено 28.XII.1950 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Винберг Г. Г. и Захаренков И. С. О количественной характеристике роли планктона в круговороте веществ в озерах. ДАН СССР, **73** (5), 1037, 1950.
2. Годнев Т. Н. и Винберг Г. Г. О пигментах «зеленой бактерии». ДАН СССР, **76** (6), 909, 1951.
3. Захаров Н. Г. и Константинова Е. Ф. Очистительные пруды на Люблинских полях фильтрации в 1919—1920 гг. Тр. совещ. по очистке сточ. вод. **1929**, вып. 11, М., 1929.
4. Красильников Н. А. Определитель бактерий и актиномицетов, Из-во АН СССР М.—Л., 1949.
5. Кузнецов С. И. и Карзинкин Г. С. Direct method for the quantitative study of bacteria in water. Ztbl. Bakt., II Abt., 83, 169, 1931.
6. Мейен В. А. Очистка сточной жидкости в прудах и выращивание в ней рыбы. М., 1932.
7. Перфильев Б. Ф. О хлорофиллоносной «зеленой бактерии» Pelodictyon clathratiforme. Журнал микробиологии, 1 (3—5). 179, 1914.
8. Bicknell. Biol. Abstr., **25** (6), No. 12947, 1950.
9. Dutton H. J. a. Juday Ch. Chromatic adaptation in relation to color and depth distribution of freshwater phytoplankton and large aquatic plants. Ecology, **25** (3), 273, 1944.
10. Huben-Pestalozzi G. Das Phytoplankton des Süsswassers. Teil 1. Stuttgart, 1938.
11. Manning W. M. a. Juday R. E. The chlorophyll content and productivity of some lakes in Northeastern Wisconsin. Trans. Wisc. Ac. Sci., **33**, 363, 1941.
12. Newcombe C. L. Observations on the conditions of existence of a green sulphur bacterium in Sodon Lake, Southeastern Michigan. Trans. Am. Micr. Soc., **69** (2), 173, 1950.

О РАЗВИТИИ БАКТЕРИЙ ЗА СЧЕТ НАТУРАЛЬНОГО КАУЧУКА

В. Н. Шапошников, И. Л. Работнова, Г. А. Ярмола, В. М. Кузнецова и Н. Н. Мозохина-Поршнякова

Нет никакого сомнения в том, что микроорганизмы могут развиваться за счет любого углеводорода, встречающегося в природе (ZoBell [11]; Осницкая [2]). Углеводород каучука также не составляет в этом отношении исключения.

С наибольшей легкостью используется микроорганизмами млечный сок каучуконосов. Это объясняется тем, что в млечном соке каучук находится в виде очень мелких частиц и, следовательно, поверхность соприкосновения с микробами очень велика. Калиненко [1] нашел, что млечный сок кок-сагыза использовался грибами и актиномицетами. По данным Спенс и Ван Ниль (Spence a. van Niel [6]) млечный сок гевеи используется почвенными актиномицетами, причем они разрушают до 70% углеводорода каучука.

Сырой каучук, хранящийся в виде листов, по данным литературы, также является субстратом, пригодным для развития микроорганизмов. Он легко плесневеет во влажных условиях (Petch [4]; Stevens [7]; De Vries [8]). На нем образуются окрашенные пятна бактериального происхождения (Arens [3]).

Другими исследователями обнаружено, что каучук могут использовать грибы из рода Aspergillus, актиномицеты и кокковидные бактерии. По данным Зенгена (Söhngen u. Foll [5]), актиномицет развивался на тонких пленках каучука. По данным Зо-Белл с сотрудниками [9, 10, 11], окислять каучук могут самые обычные почвенные бактерии из родов Achromobacter и Pseudomonas, а также Bac. subtilis; при этом окислению подвергается не только натуральный каучук, но и самые разнообразные изделия из натурального и искусственного каучука.

Таким образом, из данных литературы можно заключить, что каучук как субстрат для развития доступен самым разнообразным микроорганизмам.

Задачей настоящей работы являлось изучение воздействия на каучук бактериальных микроорганизмов.

Выделение бактериальной флоры с каучука

Выделение микроорганизмов производилось с кусков натурального каучука типа «копченый щит». Образцы помещались на неделю в эксикатор над водой при комнатной температуре для накопления микрофлоры, имеющейся на каучуке. Во влажных условиях куски быстро покрывались сплошным слоем плесени.

Грибной налет смывался сильной струей водопроводной воды. Это было необходимо для того, чтобы удалить громадное количество грибных спор. В противном случае они не дали бы возможности для развития бактерий.

Отмытый таким образом каучук нарезался на мелкие кусочки стерильными ножницами, помещался в стерильную воду и взбалтывался в ней 10—15 минут.

Из полученной суспензии производился посев на специальные среды для бактерий и для актиномицетов. В первом случае употреблялся мясо-

пептонный агар, во втором — агаровая среда Чапека. Через один-два дня выращивания при 30° на чашках появилось большое количество колоний разнообразных микроорганизмов. Всего было выделено 40 различных культур. Эти культуры были посеяны на кусочки каучука размером 0,5 × 4 см; последние на 1/3 были залиты солевым раствором [1]. Однако в течение месяца никакого видимого роста не появилось. Только под микроскопом в соскобе с поверхности каучука можно было видеть бактериальные клетки. Лишь актиномицет дал слабый, но видимый наглаз рост. Из 40 культур было отобрано 29, давших рост, который можно обнаружить под микроскопом. Необходимо было разработать такую методику культивирования бактерий на каучуке, которая выявляла бы достаточно четко развитие бактерий.

Мы применили следующую методику: каучук растворялся в бензоле (1—1,5%-ный раствор). Полученный раствор наливался в пробирки на скошенный агар. Агар приготовлялся из солевого раствора следующего состава:

I.	II.
NH_4NO_3 — 0,25%	KNO_3 — 0,25 %
Na_2HPO_4 — 0,1	Na_2HPO_4 — 0,15
KH_2PO_4 — 0,05	$MgSO_4$ — 0,05
$MgSO_4$ — 0,05	
$MnSO_4$, $FeSO_4$, $ZnSO_4$ — следы на 1 л водопроводной воды	$MnSO_4$, $ZnSO_4$, $FeCl_3$ — следы на 1 л водопроводной воды

Существенной разницы в развитии бактерий на I и II солевом растворе не оказалось.

Агар применялся очищенный от органических примесей путем длительного вымачивания, pH устанавливался 7,0. Агар в пробирке стерилизовался, и бензольный раствор каучука наливался после стерилизации. Предполагалось, что бензол убьет микроорганизмы, имеющиеся на каучуке. После испарения бензола мы получали в пробирках скошенный агар, покрытый тонкой пленочкой каучука.

При посеве, произведенном в такие пробирки, из 29 ранее отобранных бактерий видимый рост дали 17 микроорганизмов, из них один актиномицет.

Среди этих 17 микроорганизмов оказалась одна бактерия, идентифицированная как Mycococcus ruber с особенно обильным ростом в виде толстого слизистого розового налета, а также розовые дрожжи Torula rosea, дающие на вид точно такой же рост. Эти микроорганизмы были использованы для разработки методики, позволяющей количественно определить разрушение каучука.

Разработка методики культивирования бактерий на каучуке

Стерильный минеральный агар указанного выше состава наливался в стерильную чашку Петри. На поверхность застывшего агара наносился бензольный раствор каучука. После испарения бензола на образовавшуюся каучуковую пленочку наливалась суспензия культуры Mycococcus ruber с мясо-пептонной среды или культура розовых дрожжей с сусла. Через пять-шесть дней на пленке вырастали розовые колонии. Когда мы приподнимали пинцетом каучуковую пленочку с агара, то мы видели, что колонии оставались на агаре, а на их месте на каучуке обнаруживалось отверстие. Чем толще слой каучука, тем медленнее развивались микроорганизмы. В дальнейшем мы употребляли тонкие пленки, содержащие не более 65 мг каучука на 75—100 см². Несмотря на обильный посев, ни

[1] NH_4NO_3 — 0,25%, Na_2HPO_4 — 0,1%, KH_2PO_4 — 0,05%, $MgSO_4$ — 0,05% $MnCl_2$ — 0,02%, $FeSO_4$, $ZnSO_4$ — следы. Водопроводная вода.

Mycococcus ruber, ни Torula rosea не образовывали сплошного налета на каучуке, а росли в виде колоний. Прокалывание каучука для облегчения бактериям доступа к агару не оказало никакого влияния. Не оказалась успешной и заливка каучука агаром: Mycococcus ruber развивался только на самом каучуке. С дальнейшими пересевами колонии делались все мельче и мельче. Если каучук был покрыт слоем агара в 1 мм, то развития вообще не было.

Выяснилось, кроме того, что в каучуке содержатся жизнеспособные споры бактерий, которые не убиваются бензолом. Поэтому в дальнейшем для приготовления пленок каучук стерилизовался в автоклаве и затем растворялся в бензоле, профильтрованном через фильтр Зейтца.

Количественные исследования по использованию каучука бактериями

Эти опыты ставились следующим образом. Минеральный агаровый раствор (pH = 7,0) разливался в колбы Виноградского слоем в 5 мм и стерилизовался. После стерилизации на застывший агар наливалось точно по 4 мл 1,25% стерильного бензольного раствора каучука. После испарения бензола через ватную пробку (за два-три дня при комнатной температуре) на поверхность каучука наливалось 2—3 мл суспензии чистой культуры исследуемого организма, и колбы выдерживались при комнатной температуре и частично в термостате — при 30° длительный срок. Часть колб оставалась незасеянной и служила контролем, с которым сравнивались засеянные пленки. После окончания опыта каучук собирался стеклянной палочкой, согнутой в виде буквы Г, в комочек, прилипающий к стеклянной палочке. В таком виде на стеклянной палочке каучук высушивался в термостате при 37—45°. По разнице в весе между контрольными, стерильными пленками и пленками, подвергавшимися воздействию микробов, устанавливалось количественное разрушение каучука.

Как показали специально поставленные опыты, выдерживание каучука в виде пленки на агаре в стерильных условиях не влияет на его вес. Таким образом, исходное количество каучука можно определять прямо при постановке опыта.

Нами была поставлена серия опытов с восемью различными культурами, выделенными с каучука. Посев был произведен густой суспензией бактерий, выросших на мясо-пептонном агаре. Продолжительность опыта — 70 дней, частично при комнатной температуре (25°), частично в термостате при 30—35°. Результаты приведены в табл. 1.

Таблица 1

Изменение веса и вида каучука в результате развития бактерий, актиномицетов и дрожжей

Количество исходного каучука 55 — 56 мг

Культура	Вес в мг после опыта	Убыль каучука в %	Внешний вид каучука после воздействия микроорганизмов
Mycococcus ruber . . .	54,2	0	Без изменений
Бактерия № 38	55,2	0	Немного потемнел
„ № 11	51,6	5	На вид без изменений, но при высушивании каучук сначала убавил, а потом прибавил в весе (окисление?)
Bac. subtilis	25,0	55	Черный сухой порошок
Дрожжи Torula	59,4	0	Без изменений
Бактерия № 41	52,2	Менее 5	„ „
„ № 20	54,0	0	„ „
Actinomyces albus . . .	39,3	28	Черная масса

Опыт показал, что из восьми исследованных организмов, давших видимый рост на пленках каучука, только два дают ясную убыль каучука, уничтожая от половины до одной трети первоначального количества. При этом оставшийся каучук сильно изменен. При развитии актиномицета он превращается в черную твердую массу. В результате развития Bac. subtilis остаток каучука превратился в темную хрупкую массу, рассыпающуюся в порошок. С этой массы при высеве вырастает чистая культура Bac. subtilis.

Следует отметить, что Mycococcus ruber, прекрасно развивавшийся на каучуке в предыдущих опытах, при пересевах постепенно ухудшал свой рост, в данном опыте видимого роста совершенно не дал и каучука не затронул. Между тем прежде он нацело разрушал каучук в том месте, где вырастали колонии. Перестали развиваться на каучуке и дрожжи Torula rosea.

Почти все культуры через пять-шесть месяцев после выделения с каучука сильно ослабили рост при пересевах на каучуке. Одинаково хорошо развивались только спорообразующие бактерии, три культуры, идентифицированные как Bac. subtilis и актиномицет.

Далее нам предстояло решить вопрос, как идет разрушение очищенного каучука чистыми культурами бактерий. Для этого был использован препарат очищенного каучука [2]. Опыт был поставлен точно так же, как и в предыдущих случаях.

Длительность опыта — 84 дня. Колбы стояли частично при 30°, частично при комнатной температуре (20°). pH среды = 7,2. Результаты приведены в табл. 2.

Таблица 2

Разрушение микроорганизмами очищенного каучука

Культура	Вес в мг	Убыль в %
Исходное количество каучука в опыте (среднее из трех) . . .	39,2	
После развития Bac. subtilis . .	33,6	14
После развития Act. albus . . .	32,2	18
	29,0	26

Как видно из табл. 2, очищенный каучук подвергается разрушению под воздействием испытанных нами культур Bac. subtilis и Act. albus.

Влияние pH на развитие микроорганизмов за счет каучука

Возможно, что ослабление развития культур произошло от того, что мы не обеспечили для бактерий оптимальную реакцию среды.

В нашей работе мы пользовались нейтральной средой. Для решения этого вопроса была поставлена следующая серия опытов.

Минеральный агар, на который мы наливаем бензольный раствор каучука, имел pH-6,5 и 7,5. Посевной материал был взят с МПА. Результаты приведены в табл. 3.

Опыты еще раз показали, что ряд микроорганизмов способен разрушать каучук. К таким микроорганизмам принадлежит Bac. subtilis 3 исследованные культуры Mycobact. globiforme, 2 вида дрожжей, относящихся к роду Torulopsis и Achromobacter agile. Процент разрушения

[2] Методика очистки каучука будет опубликована в дальнейшем.

Таблица 3

Изменения веса каучука при развитии на нем микроорганизмов

Культура	pH	Длительность в днях	Вес каучука исходный в мг	Вес после развития в мг	Изменение веса в мг	Убыль каучука в %
Стерильный контроль	7,5	43	57,0			
	7,5	31	63,0			
	7,5	31	64,6 } 58,4			
	7,5	61	45,6			
	6,5	67	61,8			
Бактерия № 4	6,5	55		70,6	+12,2	
	7,5	55		55,8	—2,5	
Бактерия № 2а	6,5	55		59,2	+0,8	
	7,5	55		59,4	+1,0	
Bac. subtilis № 1	6,5	55		73,8	+15,4	
	7,5	55		50,4	—8,0	13,9
Bac. subtilis № 2	6,5	55		63,6	+5,2	
	7,5	55		45,0	—13,4	23,0
Bac. subtilis № 3	7,5	67		26,4	—32,0	55,0
Achr. agile	6,5	61		61,4	+3,0	29,8
	7,5	61		41,0	—17,4	
Mycococcus ruber	6,5	61		56,0	—2,4	
	7,5	61		55,8	—2,6	
Бактерия № 35	6,5	67		53,0	—5,4	9,2
Mycobact. globiforme	7,5	67		33,4	—25,0	43,0
Torulopsis № 1	6,5	67		53,2	—5,2	8,9
	7,5	67		34,4	—24,0	41,0
Torulopsis № 2	6,5	61		58,0	—0,4	23,0
	7,5	61		45,0	—13,3	

каучука вычислен только для тех случаев, где имела место явная убыль каучука по сравнению с контролем. Эти опыты подтвердили, что разрушается до половины взятого в опыт каучука. Очень большое значение имеет pH. Разрушение идет только при pH = 7,5. При pH = 6,5 его почти нет.

Разрушение протекает чрезвычайно медленно — за 2 месяца разрушается не больше 25—30 мг с поверхности 75 см². Mycococcus ruber и Torula rosea, повторно испытанные, совершенно не затрагивали каучука ни при pH = 6,5, ни при pH = 7,5.

Опыт был повторен с теми же культурами при pH = 7,5 и 8,5, причем посевной материал был взят после длительного культивирования на каучуке. За 48 дней не произошло никакой убыли каучука.

Стало ясно, что культуры, развивающиеся за счет каучука, утрачивают эту способность при культивировании в лабораторных условиях.

Влияние витаминов и органического азота на культуры, утратившие способность использовать каучук

Мы предположили, что бактериям необходимы вещества типа витаминов или сложные источники азота для того, чтобы использовать каучук. Для проверки этого предположения была поставлена серия опытов. К минеральной агаровой среде такого же состава, как и в предыдущих опытах, было добавлено 10 мл 10% дрожжевого отвара на 1 л среды.

На этой среде были получены стерильные каучуковые пленки и произведен посев следующих микроорганизмов: Act. albus, Achr. agile, Mycobact. globiforme, Bac. subtilis и Torula. Через три месяца опыт был снят. Никакой убыли каучука не оказалось, хотя на пленках был ясно заметный налет бактерий. Таким образом, и добавление витаминов и органических азотистых веществ не возвращает микроорганизмам утраченной способности использовать каучук.

Использование каучука смешанными культурами

Случайно было замечено, что неочищенные культуры бактерий, выделенные с каучука, давали гораздо более пышный рост, чем чистые культуры. Тогда мы решили исследовать развитие смешанных культур на каучуке. Смешанные культуры были получены следующим образом: кусочки каучука помещались в стерильную водопроводную воду на неделю. Затем производился посев из воды на пленки каучука. Смеси микробов хорошо развивались. Возможно, что в сообществе бактерии вступают в симбиотические взаимоотношения. Продукты жизнедеятельности одних могут служить источником питания для других. Одни бактерии могут поставлять другим витамины. В естественных условиях на каучуке микроорганизмы, несомненно, находятся в смеси.

С четырьмя смешанными культурами был поставлен опыт при различных pH: 6,0; 7,0 и 8,8. Методика работы была в точности такая же, как и в предыдущих опытах. Применялся минеральный агар. Особенно заметное развитие было в наиболее щелочных условиях при pH = 8,8. Каучук был покрыт сплошным слоем микроорганизмов. Кроме того, в отдельных местах образовались массивные колонии бактерий, под которыми каучук исчез нацело: если приподнять каучуковую пленку, то на ней были видны отверстия. При pH = 7,0 развитие было заметное, но более слабое. При pH = 6,0, развития не было. Ввиду интенсивного развития микроорганизмов при pH = 8,8 мы сняли опыт через 17 дней. Пленки были сняты, высушены и взвешены. Необходимо иметь в виду, что вес пленок, на которых наблюдалось хорошее развитие, был заведомо преувеличенным, так как к весу оставшегося каучука прибавился вес тел выросших микроорганизмов. Как можно видеть из табл. 4, несмотря на вышеуказанное обстоятельство, за 17 дней произошло явное использование каучука.

Таблица 4

Использование каучука смешанными бактериальными культурами при различных pH

Культура	pH=6,0		pH=7,0		pH=8,80	
	вес в мг	убыль в %	вес в мг	убыль в %	вес в мг	убыль в %
Смесь № 1	42,6	0	44,6	—	40,0	11
„ № 2	46,6	0	35,0	22	34,5	23
„ № 3	45,9	0	42,7	5	35,1	22
„ № 4	44,0	0	28,0	37	33,0	26
Контроль	44,8					

Этот опыт показал, что смесями бактерий каучук может разрушаться очень быстро — более чем на 20% за 17 дней.

Опыт был повторен еще раз при pH = 7,0 и 8,0. При этом в половину колб был добавлен дрожжевой отвар в количество 0,1%, а вторая половина колб содержала минеральный агар. На 2—3-й день поверхность каучука во всех колбах покрылась бактериальным налетом. Через ме-

сяц при снятии опыта выяснилось, что ни в одной колбе не сохранился каучук. Шпателем снималась одна бактериальная масса, которая нацело расходилась в воде, образуя мутную суспензию бактерий. Добавление дрожжевого отвара в случае смешанных культур не оказало заметного влияния.

Видовой состав бактериальных смесей

Из смешанных культур бактерий на каучуке были выделены составляющие их виды. Выделение производилось на чашках с МПА и со средой Чапека (глюкозо-минеральный агар). Каждая смесь состояла из пяти-шести видов, различающихся по характеру колоний. Во всех смесях присутствовали розовые микобактерии. Из смеси № 3 и 4 они определены как Mycobacterium lacticola, а из смеси № 2 — как Mycococcus ruber.

Во всех смесях также оказалась желто-зеленая микобактерия, определенная как Mycobact. viridans. В смеси № 2 имелся еще Mycococcus vadosum. Кроме микобактерий, были выделены споровые палочки Bac. tritus, Bac. megatherium и Bac. brevis и в одной смеси был найден Act. griseus.

Мы исследовали действие на каучук каждой культуры в отдельности, а также действие каждой смеси, вновь составленной из выделенных из нее компонентов. Результаты представлены в табл. 5.

Таблица 5

Воздействие на каучук чистых культур бактерий и смесей чистых культур

Длительность опыта — 30 дней

Культура	Характер роста и изменения каучука	Вес остатка в мг
Смесь № 2 из 6 компонентов	Розовый налет После высушивания — сухие кусочки	20,5
Смесь № 3 из 5 компонентов	Розовый, сухой налет, после высушивания — хрупкие кусочки	20,7
Смесь № 4 из 7 компонентов	Розовый, местами кремовый налет. Собрать его не удается, никаких остатков каучука	0
Mycobact. lacticola „ viridans Actinomyces griseus	Розовый блестящий рост и местами серый, сухой	20,7
Mycobact. lacticola „ viridans Bac. tritus	Розовый налет. Собрать его не удается, никаких остатков каучука	0
Mycobact. lacticola Act. griseus	Блестящие розовые и сухие серые колонии. После высушивания — бурые сухие кусочки	20,0
Mycobact. lacticola „ viridans	Розовый налет. После высушивания—хрупкие кусучки	30,0
„ lacticola	Розовый налет. Собрать его не удалось. Никаких остатков каучука	0
„ viridans	Нет роста	40,4
Act. griseus	Сплошной налет сухих серых колоний. После высушивания липкая черная масса	40,7
Bac. tritus	Едва видимый налет. После высушивания липкая масса	40,3
Bac. megatherium	Нет видимого роста. Каучук без изменений	40,6
Bac. brevis	Белые колонии. Каучук без изменений	40,5
Контроль		40,5

Можно видеть, что смесь чистых культур активно ведет разрушение каучука, не хуже, чем естественная смесь. Ведущую роль играют розовые микобактерии, о чем свидетельствует розоватая окраска, сообщаемая каучуку. Свежевыделенная Mycobact. lacticola весьма энергично использует каучук как в чистой культуре, так и в смеси с другими бактериями. Остальные микроорганизмы в чистом виде каучука не затрагивают.

При постановке многочисленных аналогичных опытов с различными комбинациями культур мы убедились в том, что быстрое разрушение каучука происходит только в присутствии розовых микобактерий. Мы применяли промывание в воде остатков каучука для того, чтобы удалить бактериальные тела. В результате промывания остается очень незначительный остаток вещества, не диспергируемого в воде, который можно рассматривать как остаток каучука. Бактериальные тела дают равномерную муть. Вес этих остатков в большинстве случаев не превышает нескольких миллиграммов. Таким образом, цифры, приведенные в табл. 5 являются преувеличенными за счет веса бактериальных тел.

Условия сохранения способности использовать каучук

В каких условиях культивирования Mycobact. lacticola, наиболее активный потребитель каучука, может сохранять свою активность? Для решения этого вопроса мы пересевали Mycobact. lacticola штрихами на МПА, на МПА с пленкой каучука, на среде Чапека и на минеральном агаре с пленкой каучука.

После четырех-пяти пересевов, произведенных через каждые пять-шесть дней, выяснилось следующее. На минеральном агаре рост слабел с каждым пересевом, и в пятом пересеве совершенно прекратился. На среде Чапека рост постепенно ухудшался. На МПА и МПА с пленкой каучука рост был все время обильным, но окраска постепенно бледнела. Через $1^1/_2$ месяца со всех сред был сделан пересев на минеральный агар с каучуком, чтобы выяснить, сохранилась ли способность к использованию каучука.

Посев с МПА и МПА с пленкой каучука дал развитие. Посев со среды Чапека почти не вырос. Таким образом, при культивировании на сложных органических средах культура сохраняется лучше, чем на минеральной среде с каучуком или сахаром (среда Чапека). Очевидно, бактериям необходимы какие-то дополнительные питательные вещества. Весьма вероятно, что необходимые дополнительные питательные вещества микобактерии, использующие каучук, получают от своих спутников. Об этом свидетельствует следующее наблюдение: культура Micrococcus ruber в течение нескольких месяцев сохранила способность развиваться на каучуке при совместном культивировании с Mycobact. vadosum и бактерией из рода Pseudomonas. В чистом виде культура перестала развиваться на каучуке уже через месяц.

Выводы

1. Углеводород каучука может использоваться бактериями. Нами обнаружено, что разрушение каучука может осуществляться Bac. subtilis, Achr. agile, Micrococcus ruber, Mycobact. globiforme, Mycobact. lacticola и Act. albus. Кроме того, за счет каучука развиваются очень мелкие аспорогенные розовые дрожжи.

2. Использование каучука происходит при pH не ниже 7. Щелочная реакция благоприятствует этому процессу.

3. Чистые культуры микроорганизмов в лабораторных условиях быстро утрачивают способность к использованию каучука, особенно при культивировании на минеральной среде без других органических ве-

ществ, кроме каучука. На средах, более богатых органическим веществом, активность сохраняется дольше.

4. Потребление каучука идет особенно энергично в смешанных культурах. Они и в лабораторных условиях дольше сохраняют свою разрушающую каучук активность.

Биолого-почвенный научно-исследовательский институт
Московского государственного университета
им. М. В. Ломоносова

Получено 19.I.1951 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Калиненко В. О. Роль плесневых грибов, актиномицетов и бактерий в разрушении каучука. Микробиология VII, вып. 1, 1938.
2. Осницкая Л. К. Разрушение углеводородов бактериями. Микробиология, XV, стр. 249, 1946.
3. Arens P. B. prodigiosum als Erreger der roten Flecken auf frisch bereiteten Kautschuk. Ztbl. Bakt. II Abt., **35**, 465, 1912.
4. Petch T. Аннотация к книге «The physiology and disease of Havea», Ztbl. Bakt. II Abt., **21**, 302, 1912.
5. Söhngen N. u. Foli J. Die Zersetzung des Kautschuks durch Mikroben. Ztbl. Bakt. II Abt., **40**, 87, 1914.
6. Spence D. and van Niel C. Bacterial decomposition of the rubber in Hevea latex. Ind. Eng. Chem. Ind. Ed., **28**, 847, 1936.
7. Stevens P. Wirkung von Schimmel auf Rohkautschuk und dessen Vulkanisation. Gummi Zeitung, Nr. 25, 699, 1922.
8. de Vriss O. Zersetzung von Kautschukkohlenwasserstoff durch Pilze. Ztbl. Bakt. II Abt., **74**, 22, 1929.
9. ZoBell C. a. Grant C. The bacterial oxidation of rubber. Science, **96**, 144, 1943.
10. ZoBell C. a. Beckwith J. The deterioration of rubber products by microorganisms. J. Am. Water Works Ass., **36**, No. 4, 439, 1944.
11. ZoBell C. Action of microorganisms on hydrocarbons. Bact. Rev. **10**, No. 2, 1946.

ЗНАЧЕНИЕ ТИАМИНА ДЛЯ ОБРАЗОВАНИЯ АЦЕТОНА ГЛАДКИМ И ЛОПАСТНЫМ ВАРИАНТОМ BAC. ACETOETHYLICUS

Н. Д. Иерусалимский и Л. М. Лурье

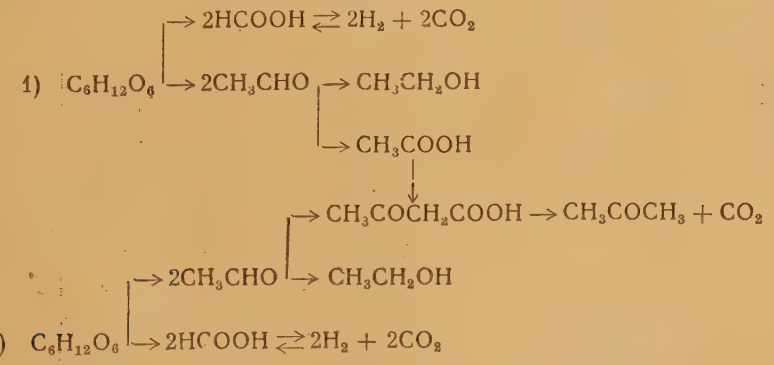
Чумак [4], сравнивая найденные ею два варианта Bac. acetoethylicus, установила, что вариант с гладкими колониями образует ацетон значительно более интенсивно, чем вариант с лопастными колониями. С другой стороны, как показала наша работа (3) с обычным, смешанным штаммом Bac. acetoethylicus, для энергичного образования ацетона необходимо, чтобы в среде имелись достаточные количества тиамина (витамина B_1). Повидимому, тиамин выполняет какую-то важную роль в тех физиологических и биохимических процессах, которые ведут к образованию ацетона.

Возник естественный вопрос: не зависит ли более высокая ацетонообразовательная активность гладкого варианта от того, что он более легко проводит самостоятельный биосинтез тиамина, вследствие чего недостаток тиамина не ограничивает его деятельности? Для проверки этого предположения было проведено настоящее исследование.

В работе были использованы гладкий и лопастной варианты, полученные непосредственно от Чумак. Методика исследования описана нами ранее [1, 2].

Используя синтетические среды с уменьшенным количеством глюкозы (0,9—1,2%) и достаточной дозировкой тиамина (от 0,1 до 10 мг/л), мы могли убедиться, что при прочих равных условиях гладкий вариант образует ацетон в два раза интенсивнее, чем лопастной, тогда как выход спирта у обоих вариантов почти не различается (табл. 1).

Как известно [3], ацетоно-этиловое брожение состоит из двух последовательных биохимических реакций:



Образующаяся в результате первой реакции уксусная кислота вступает во взаимодействие с промежуточными продуктами распада сахара и дает CH_3COCH_3COOH (ацетоуксусную кислоту), после декарбоксилирования которой образуется ацетон (CH_3COCH_3). Но чтобы уксусная кислота могла вступить в реакцию, ее диссоциация должна быть подавлена. Последнее происходит либо при низких pH (что мало приемлемо по отношению к ацетоно-этиловым бактериям, нуждающимся в ней-

Таблица 1

Сброженный сахар в г/100 см³	Продукт брожения	Гладкий вариант		Лопастной вариант	
		в г/л	в % к сброженному сахару	в г/л	в % к сброженному сахару
0,9	Ацетон	0,76	8,4	0,24	2,7
1,0	»	0,97	9,7	0,42	4,2
1,0	»	0,94	9,4	0,57	5,7
1,2	»	1,01	8,4	0,5	4,2
1,2	»	0,97	8,1	0,52	4,3
	Среднее		9,2	—	4,2
0,9—1,2	Спирт		24—27	—	26—28

тральном pH), либо при наличии в среде достаточных количеств ацетатов. В связи с этим в начале брожения, когда в среде не успела еще накопиться уксусная кислота (вернее, ацетат кальция, так как брожение идет с мелом), вторая реакция не может протекать с полной интенсивностью, если даже бактериальные клетки и обладают необходимым для этого энзиматическим аппаратом. Добавляемый в среду ацетат способствует осуществлению второй (ацетонообразовательной) реакции и тем самым позволяет полностью выявить ацетонообразовательные возможности бактерий.

В табл. 2 приведены данные опытов, в которых для «проявления» ацетонообразовательной способности бактерий в среду вносилась уксусная кислота в количестве 5 см³ 0,1 М на 10 см³ среды, т. е. по 3 г/л.

Таблица 2

Сброженный сахар в г/100 см³	Продукт брожения	Гладкий вариант		Лопастной вариант	
		в г/л	в % к сброженному сахару	в г/л	в % к сброженному сахару
0,9	Ацетон	1,85	20,5	0,98	10,9
1,0	»	1,92	19,2	1,47	14,7
1,0	»	1,89	18,9	1,32	13,2
1,2	»	2,09	17,4	1,26	10,5
1,2	»	1,92	16,0	1,10	9,2
	Среднее	—	18,4	—	11,7
0,9—1,2	Спирт	—	24—24,4	—	24—27
0,9—1,2	Уксусная кислота	1,3—1,9	—	5,0—6,0	—

Из сопоставления табл. 1 и 2 можно видеть, что после добавления уксусной кислоты выход спирта, как и следует из теории, остается без изменения, тогда как выход ацетона повышается в 2—2½ раза. Однако и в этом случае гладкая раса продолжает образовывать ацетон более интенсивно, чем лопастная.

Последнее проявляется также и в количестве уксусной кислоты в конце опыта: у гладкого варианта уксусной кислоты остается меньше, чем ее было дано в исходную среду. Следовательно, способность к осуществлению второй (ацетонообразовательной) реакции брожения у этого варианта так сильно развита, что в процесс образования ацетона вовлекается не только вся уксусная кислота, образующаяся заново во время брожения, но и кислота, внесенная в среду извне. Напротив, у лопастного варианта вторая реакция продолжает отставать от первой, несмотря на присутствие ацетата, и поэтому содержание кислоты за время опыта возрастает. Очевидно, что лопастной вариант обладает более низкими физиологическими потенциями в смысле образования ацетона.

Таким образом, данные Чумак [4], показавшие, что два варианта Bac. acetoethylicus при обычном выращивании на натуральных средах обладают различной ацетонообразовательной активностью, подтверждаются и в наших опытах, проведенных на синтетических средах с достаточными количествами витаминов и ацетатом в качестве «проявителя» ацетонообразовательной способности бактерий.

Перейдем теперь к вопросу о влиянии дозировок тиамина на ацетонообразовательную деятельность гладкого и лопастного вариантов. Данные трех опытов на средах с уменьшенным количеством углеводов и 5 см³ 0,1 *М* уксусной кислоты представлены в табл. 3.

Таблица 3

№ опыта	Сброженный сахар в г/100 см³	Концентрация тиамина в мг/л	Образование ацетона			
			гладким вариантом		лопастным вариантом	
			в г/л	соотношение	в г/л	соотношение
1	0,9	0,001	1,76	100*	0,33	100
		10,0	1,85	105	0,98	297
2	1,0	0,001	1,88	100	0,82	100
		0,1	1,89	100	1,32	161
		10,0	1,92	102	1,47	179
3	1,2	0,0001	1,80	100	0,74	100
		0,01	1,92	107	1,10	149
		1,0	2,09	116	1,26	170

* Образование ацетона при минимальной концентрации тиамина в каждом опыте принято за 100.

Табл. 3 показывает, что гладкий вариант очень мало чувствителен к тиамину. При изменении дозировки тиамина в 10 000 раз выход ацетона изменяется только на 2—16%. Даже в среде, содержащей всего лишь 0,0001 мг/л тиамина, т. е. практически лишенной тиамина, ацетон продолжает образовываться с достаточной интенсивностью. В связи с этим уместно напомнить, что при посеве обычной смешанной культуры Bac. acetoethylicus на синтетический агар без тиамина вырастают только гладкие колонии [3].

В противоположность этому лопастной вариант сильно отзывается на изменения концентрации тиамина. При избытке тиамина его ацетоно-

образовательная деятельность в двух опытах усиливается на 70—79%, а в опыте 1 — почти втрое (табл. 3).

В табл. 4 приведены средние данные о влиянии тиамина на образование спирта. Можно видеть, что и у гладкого и у лопастного вариантов спирт образуется с одинаковой интенсивностью, причем в противоположность ацетону выход его мало зависит от концентрации тиамина. В особенности это относится к лопастному варианту: при избытке

Таблица 4

Сброженный сахар в г/100 см³	Концентрация тиамина в мг/л	Образование спирта			
		гладким вариантом		лопастным вариантом	
		г/л	соотношение	г/л	соотношение
0,9	0,001	1,9	100*	1,9	100
	10,0	2,2	116	2,35	123
1,0	0,001	2,35	100	2,45	100
	0,1	2,4	102	2,55	104
	10,0	2,55	109	2,75	112

* См. сноску к табл. 3.

тиамина спирт увеличивается до 112—123%, тогда как ацетон в таких случаях увеличивался до 170—297% (табл. 3). Это обстоятельство еще раз подтверждает, что тиамин оказывает специфическое влияние именно на процесс образования ацетона.

Меньшая нуждаемость в тиамине у гладкого варианта по сравнению с лопастным свидетельствует о том, что он легче синтезирует тиамин. Вместе с тем при прочих равных условиях у гладкого варианта ацетон образуется с большей интенсивностью, чем у лопастного (табл. 3), а поэтому, учитывая, что между тиамином и процессом образования ацетона существует какая-то тесная зависимость, есть все основания заключить, что более высокая ацетонообразовательная активность гладкого варианта объясняется его более высокой способностью синтезировать тиамин.

Следует еще обратить внимание на то, что даже при избытке тиамина лопастной вариант отстает по своей активности от гладкого (табл. 2 и 3). Если бы тиамин непосредственно катализировал процесс ацетонообразования, то такое отставание не должно бы было иметь места. Поэтому надо думать, что тиамин оказывает свое влияние не непосредственно, а лишь после того как он ассимилируется клеткой и входит в состав ее энзиматических систем, на что, конечно, требуется известное время. Кроме того, вполне возможно, что содержащие тиамин энзиматические системы не участвуют в самом процессе образования ацетона, а лишь способствует синтезу каких-то иных энзимов, необходимых для этого процесса.

С течением времени, когда тиамин полностью усваивается бактериями, разница между гладким и лопастным вариантами может сгладиться, тем более, что ацетоно-этиловые бактерии не лишены способности синтезировать тиамин, а лишь осуществляют это в замедленном темпе. Именно по этим соображениям мы применяли среды с уменьшенными количествами углеводов, на которых развитие культуры рано останавливалось.

Выводы

Выделенные Чумак гладкий и лопастной варианты ацетоно-этиловых бактерий были изучены в отношении их ацетонообразовательной активности на синтетических средах. Было показано, что при прочих равных условиях гладкий вариант обладает значительно более высокой активностью.

Гладкий вариант мало нуждается в тиамине для своего развития и для образования ацетона. Напротив, ацетонообразовательная деятельность лопастного варианта очень сильно зависит от концентрации тиамина.

Тиамин имеет специфическое значение для образования ацетона. Образование этилового спирта у обоих вариантов протекает с одинаковой интенсивностью и мало зависит от дозировки тиамина.

Есть основания полагать, что более высокая ацетонообразовательная активность гладкого варианта объясняется его более высокой способностью к самостоятельному синтезу тиамина.

Биолого-почвенный научно-исследовательский институт Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова

Получено 17.1.1951 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Иерусалимский Н. Д. и Булаткин А. Д. Влияние ростовых веществ на ацетоно-этиловые бактерии. Сообщ. 1. Микробиология, XIV, вып. 2, 107, 1945.
2. Иерусалимский Н. Д. То же. Сообщ. 2. Микробиология, XIV, вып. 6, 393, 1945.
3. Иерусалимский Н. Д. и Неронова Н. М. То же. Сообщ. 3. Микробиология, XV, вып. 4, 303, 1946.
4. Чумак М. Д. Биохимическая характеристика гладкого и лопастного вариантов Bac. acetoethylicus. Микробиология, XVI, вып. 6, 483. 1947.

СПИРТОУСТОЙЧИВОСТЬ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ

Е. И. Квасников

Развитие молочнокислых бактерий и дрожжей связано с одной и той же средой обитания, и поэтому ряд свойств этих групп микроорганизмов, близких по своему ферментативному аппарату, может быть понят лишь при эволюционном подходе к изучению их сообществ.

Понимание взаимоотношений дрожжей и молочнокислых бактерий в их сообществах представляет не только теоретический, но и практический интерес, так как облегчает пути управления ими в условиях технологического процесса. Указанные взаимоотношения являлись предметом наших многолетних работ. Здесь приведем некоторые из результатов этих исследований.

Спиртоустойчивость молочнокислых бактерий

Спиртоустойчивость молочнокислых бактерий была вне сферы микробиологических исследований. В старых работах авторы [8], изучившие молочнокислое скисание вин, указывали, что молочнокислые бактерии, выделенные ими из сухих вин, развивались при предельном содержании спирта в 12 об% и лишь единичные при 14 об%.

Более поздние исследователи [7], описывая заболевание крепких вин, априорно полагали, что более высокая спиртоустойчивость среди молочнокислых бактерий присуща только очень узкой группе их.

Нами изучена спиртоустойчивость около тысячи штаммов молочнокислых бактерий (Lactobacterium plantarum (Orla Jensen), L. breve (Orla Jensen), L. buchneri (Henneberg), L. fermentii (Beijerinck), L. deblrückii (Leihmann), L. acidophilum (Moro), L. bulgaricum (Luers et Kuhn), Streptococcus lactis (Lister) как музейных, так, преимущественно, свежевыделенных из различных субстратов (растений, почвы, солода, квашеных овощей и фруктов, вин, заторов бродильных заводов).

Питательные среды во всех случаях брались наиболее благоприятные для развития того или иного из исследуемых видов, обычно: автолизат винных дрожей с 1% глюкозы, капустный отвар с 1% пептона и 2% глюкозы, сусло с дробиной, молоко и др. с оптимальным значением pH. В среды вводился спирт в различных концентрациях (от 12 до 26 об%), и после тщательного перемешивания в них высевалась двухсуточная культура бактерий (в количестве двух петель на каждые 10 мл среды). Пробирки после посева закрывались пробками, которые дополнительно парафинировались для уменьшения испарения спирта, и помещались при температуре 20—25°. Периодически производился просмотр пробирок и микроскопирование.

Все штаммы L. buchneri, выделенные из больных вин, как сухих, так и десертных, вне зависимости от типа вина, развивались при концентрации спирта до 18—22%. Особенно высокую спиртоустойчивость (до 23%) при этом обнаружили штаммы, выделенные из шампанского в акратофорах, заболевание которого нами описано впервые [6]. Возможно, что жесткие для молочнокислых бактерий условия акратофорной шампанизации направленно содействовали повышению их спиртоустойчивости.

Все выделенные штаммы сохраняли высокую стойкость к спирту и после четырех лет лабораторного культивирования.

Но высокой спиртоустойчивостью обладают не только штаммы, выделенные из вин. Штаммы молочнокислых бактерий, выделенные из эпифитной микрофлоры среднеазиатских растений, все росли в пределах 16—20% спирта. Ту же спиртоусточивость проявили штаммы (L. plantarum и др.), выделенные из силоса.

Штаммы L. breve, выделенные из различных квашеных продуктов (капусты, помидоров, огурцов и т. п.), росли при 15—20% спирта.

Спиртоустойчивость присуща ацидофильной палочке, отдельные штаммы которой росли при 14—18% спирта, а также болгарской палочке, развивавшейся при 16% спирта.

Интересно подчеркнуть, что при высеве естественного комплекса микрофлоры кислого молока в МПБ с глюкозой (pH = 7) различные пробы молока давали разные результаты. Развитие молочнокислой флоры в этих опытах наблюдалось в присутствии в среде спирта в пределах 14—16%. Спиртоустойчивость штаммов молочнокислых кокков, выделенных из различных проб узбекского кислого молока, была в тех же пределах. Единичные штаммы выдерживали до 18% спирта.

Взятые для контроля стандартные штаммы золотистого стафилококка (Staphylococcus aureus № 222) и кишечной палочки (Bacterium coli commune № 240) развивались лишь при максимальной концентрации спирта — 7%, а антракоид (Bac. antracoides) не рос уже при 6%.

Была испытана также устойчивость к спирту 60 свежевыделенных и производственных штаммов Saccharomyces ellipsoideus. При тех же условиях опыта на сусле ни один из штаммов уже не дал роста при концентрации спирта выше 16 об%; Torula kefir не развивались при 14% спирта.

Таким образом, подавляющее большинство штаммов молочнокислых бактерий развивалось при концентрации спирта 16—18%, некоторые — при 20% и даже 22%, а единичные — при 23%. Лишь немногие (преимущественно кокки, выделенные из молочных продуктов) росли при содержании спирта не выше 14—16%. Приспособленность молочнокислых бактерий к развитию при высоких концентрациях спирта является характерным свойством, широко присущим группе молочнокислых бактерий как гомоферментативных, так и гетероферментативных.

Чем больше спирта содержит среда, тем медленнее в ней размножаются бактерии. Наибольшей скоростью размножения обладают штаммы, выделенные из больных вин, особенно из акратофоров. При предельных концентрациях спирта видимые признаки роста наступают нередко лишь через 15—25 суток, а иногда — $1^1/_2$—2 месяца.

Нами изучено также влияние наличия спирта в средах на длительность выживания молочнокислых бактерий в них без пересевов.

В табл. 1 приведены результаты изучения продолжительности выживания двух штаммов L. buchneri — № 106, свежевыделенного из сухого больного вина, и 114_2, выделенного из десертного вина три года назад и затем культивировавшегося в лабораторных условиях на автолизат-глюкозной среде. В пробирки с 10 мл соответствующей среды производился посев одной петли трехсуточной культуры; затем пробирки выдерживались при комнатной температуре. Каждые десять дней высевом в капустную среду проверялась жизнеспособность бактерий.

Продолжительность жизни без пересевов в спиртосодержащих средах, превышающая в два-три раза продолжительность жизни в культурах без спирта, обуславливается тем, что в первых бактерии размножаются медленно и медленнее накапливают продукты брожения.

Этим же объясняется и нередко наблюдаемая большая длительность жизни молочнокислых бактерий в винах. В наших лабораторных опытах она иногда превышала 8 месяцев.

Таблица 1

Продолжительность выживания молочнокислых бактерий
L. buchneri в различных средах при 18—22°

Среда	pH	Продолжительность выживания штаммов в сутках	
		свежевыделенного (№ 106)	лабораторного (№ 1142)
Виноградное сусло	3,6	25	25
„ „ с 15 об% спирта	3,6	Нет роста	Нет роста
„ „	4,2	30	30
„ „ с 15 об% спирта	4,2	90	90
„ „ с мелом	4,2	130	140
Автолизат дрожжей	3,6	50	50
„ „ с 15 об% спирта	3,6	Нет роста	Нет роста
„ „	4,2	90	80
„ „ с 15 об% спирта	4,2	200	200
„ „ с мелом	4,2	210	210
Капустная среда	3,6	30	—
„ „ с 15 об% спирта	3,6	Нет роста	Нет роста
„ „	4,2	30	40
„ „ с 15 об% спирта	4,2	80	80
„ „ с мелом		180	180
Сухое вино Баян-Ширей урожая 1949 г.	3,6	Нет роста	Нет роста
„ „ „ „ „	4,2	210	200
Десертное вино Ркацители урож. 1947 г.	3,6	Нет роста	Нет роста
„ „ „ „ „	4,0	90	90
„ „ „ „ „	4,2	150	150

Существенно также отметить, что угнетающее действие высоких температур более остро сказывается при высоких концентрациях спирта — бактерицидное действие спирта усиливается с повышением температуры. Так, при 16 об% спирта подавляющее большинство штаммов L. buchneri уже не развивалось при 35°, а при 38° не развивались все штаммы.

Стойкость к спирту зависит и от состава питательной среды. Она особенно высока при богатстве питательной среды всем комплексом аминокислот и витаминов, необходимых для развития того или иного вида бактерий.

Молочнокислые бактерии возбудители заболеваний вин вообще очень требовательны к набору витаминов и аминокислот. В чистом виноградном сусле (pH = 3,8) они развиваются слабо. Они при этом не переносят выше 12—15 об% спирта. Обогащение сусла продуктами, освобождающимися в процессе автолиза дрожжей, повышает спиртоустойчивость этих бактерий до указанных выше пределов.

В микробиологии прочно установилось мнение, что бродильные микроорганизмы проявляют наибольшую резистентность к продуктам, образующимся в результате их собственной жизнедеятельности. Эти вещества оцениваются как «защитные вещества микробов». К таким веществам относятся продукты брожения дрожжей (спирт), молочнокислых и уксусных бактерий и некоторых плесневых грибов (органические кислоты) и т. д.

Большой интерес представляет изучение роли «защитных веществ» микроорганизмов при развитии их в сообществе. Мы считаем, что в процессе эволюции микробных сообществ значительную роль играет приспособление одних форм к использованию продуктов жизнедеятельности других. При этом нередко одни микроорганизмы могут выработать в себе резистентность к продуктам брожения других видов, значительно превышающую резистентность последних к продуктам их соб-

ственного брожения. Своеобразное сообщество дрожжей и молочнокислых бактерий может служить ярким примером этого положения. Большинство дрожжей Saccharomyces ellipsoideus и Sacch. cerevisiae несомненно резистентнее как к активной кислотности среды, так и к высокому содержанию молочной кислоты в ней, чем сами молочнокислые бактерии. Молочнокислые же бактерии в свою очередь выработали большую стойкость к продуктам жизнедеятельности дрожжей — спирту, значительно превосходящую таковую у самих дрожжей.

Следует отметить, что чувствительность к спирту у других видов бактерий (немолочнокислых), как было установлено нами в специальных исследованиях, значительно возрастает с увеличением кислотности среды. Поэтому сочетание двух продуктов брожения — спирта и молочной кислоты — значительно повышает защитные свойства описываемого нами сообщества.

При изучении этих микроорганизмов следует считаться с защитными веществами их сообществ, а не только отдельных компонентов сообщества.

В условиях технологического процесса накопление спирта дрожжами не следует расценивать как средство, защищающее среду от развития молочнокислых бактерий, вредящих технологическому процессу. Больше того, в условиях виноделия спиртование до всех норм, принятых промышленностью, полностью не гарантирует вина от порчи.

Взаимная высокая стойкость к продуктам брожения — это только одна из сторон взаимоотношений данных микроорганизмов в сообществе. Существенным является взаимный обмен обеих групп при совместном развитии продуктами жизнедеятельности. Так, значительная часть молочнокислых бактерий остро нуждается в витаминах. При автолизе дрожжевых клеток они снабжают молочнокислых бактерий полным набором этих веществ, необходимых для их роста. При высокой концентрации автолизата в среде многие молочнокислые бактерии (L. buchneri и др.) развиваются в нем без добавления углеводов. В такой среде они отличаются высокой продолжительностью жизни и относительно высокой стойкостью к неблагоприятным воздействиям.

Все это обуславливает неоднократно отмечаемое в литературе более длительное выживание в средах молочнокислых бактерий совместно с дрожжами, чем без них. Можно предположить, что совместное развитие их в природе содействует сохранению вида. Исторически сложившиеся взаимоотношения молочнокислых бактерий и дрожжей очень стойки. Понимание этих взаимоотношений в значительной степени помогает управлению бродильными процессами в условиях производства [2—5].

Новые методы исследования молочнокислых бактерий

Элективных сред в полном значении этого слова для молочнокислых бактерий по существу до сих пор не было предложено. Обычно принятые среды (солодовые, молочные и др.) при посеве на них проб из естественных субстратов отбирают очень широкую группу микроорганизмов. При этом такой признак, как скисание молока, присущ и ряду других бактерий. Это заставляет при количественном определении молочнокислых бактерий (например, в силосах) при высевах (по способу разведений) в молоко добавочно определять в нем через определенный промежуток времени нарастание кислотности титрованием. Некоторые авторы при выделении отдельных видов из субстратов, богатых разнообразной микрофлорой, рекомендуют вводить в среды те или иные эмпирически найденные вещества (например, фенол и различные кислоты при выделении ацидофильной палочки из фекалиев). При высевах из природных субстратов на агаризованные среды с мелом обильный рост посторонней микрофлоры, в частности плесневых грибов,

нередко весьма затрудняет выделение чистых культур молочнокислых бактерий, особенно видов, отличающихся очень медленным ростом. Поэтому при исследовании молочнокислых бактерий ощущается потребность в разработке удобных и быстрых методов.

Предлагаемые нами методы основаны на изучении описанных выше биологических свойств молочнокислых бактерий.

Для работ по выделению молочнокислых бактерий нами предлагаются элективные среды указанного выше состава с обязательным прибавлением спирта. Содержание последнего устанавливается в каждом конкретном случае особо в зависимости от спиртоустойчивости выделяемого вида бактерий, колеблящейся в описанных выше узких пределах. При обычных работах мы пользуемся средами с 15 об% спирта.

При высеве в данную среду рост посторонней микрофлоры подавляется и мы получаем свободную от нее культуру молочнокислых бактерий. При работах с резкоугнетенными предварительным культивированием бактериями возможно вначале произвести высев в среду без спирта, для предварительного освежения и накопления бактерий, с последующим высевом в среду со спиртом. Из накопительной культуры в дальнейшем молочнокислые бактерии легко изолируются.

«Промывку спиртом» инфицированных молочнокислых бактерий мы широко рекомендуем лабораторным и производственным работникам. В лаборатории обычно бывает достаточно одного пересева в среду со спиртом, чтобы очистить инфицированную культуру. В производстве очистка производится аналогично широко принятому в спиртовом производстве приему промывки дрожжей молочной и серной кислотой. В среду по расчету вводится спирт (до указанных выше норм), тщательно перемешивается и затем проводится высев большого количества матки (обычно 5—10%). Спирт подавляет постороннюю микрофлору и очищает культуру молочнокислых бактерий. Только споры некоторых бактерий выживают в данной среде, но в ней никогда не прорастают.

Используя исключительную спиртоустойчивость молочнокислых бактерий, легко установить титр их в любых субстратах (например, в силосе). При этом производится высев определенных количеств субстрата (по способу разведений) в спиртосодержащую элективную среду. Развитие в ней свидетельствует о наличии молочнокислых бактерий. Поверочные многочисленные исследования (высев в чашки с агаризованной средой с мелом, исследование кислотообразования и т. д.) нам неизбежно подтверждало, что в пробирках при типичном помутнении их мы имеем действительно молочнокислых бактерий. При подсчете молочнокислых бактерий в слабообсемененных субстратах, где они находятся в заведомо угнетенном состоянии (эпифитной микрофлоре растений и т. д.), мы рекомендуем предварительно сделать количественный высев в среды без спирта и затем через сутки в них ввести спирт.

Удобство данного метода заключается еще и в том, что мы сразу (в крайних разведениях) практически получаем чистую культуру, которая в дальнейшем легко изолируется. К тому же выживание в этих средах молочнокислых бактерий, как указывалось, выше, чем на обычных средах, что также значительно облегчает работу исследователя. Этими методами мы широко пользуемся для выявления и подбора активных рас для силосования и т. д.

Микробиологический контроль бродильных производств, как одно из наиболее существенных звеньев, включает выявление очагов инфекции, в которых наиболее, а зачастую единственно опасными являются молочнокислые бактерии. При этом принятые методы контроля (прямое микроскопирование, количественные высевы в чашки Петри и др.) обычно мало удовлетворяют практику и не вскрывают степени инфицированности объекта. Забродский [1] для выявления очагов инфекции на спиртовом производстве рекомендует производить из них высевы в колбы

со стерильным затором, которые затем прогреваются до температур осахаривания и пастеризации затора, выдерживаются при оптимальной температуре брожения в течение двух суток. По нарастанию кислотности в них судят о степени загрязнения исследуемого материала молочнокислыми бактериями.

Сущность нашего способа заключается в том, что материал из исследуемых объектов (ополоски посуды, аппаратуры, коммуникации, пробы бродящих жидкостей, готовой продукции и т. д.) высеваются в пробирки со спиртсодержащей элективной для молочнокислых бактерий средой. Рост в ней свидетельствует о наличии жизнеспособных молочнокислых бактерий. Для удобства в среду можно предварительно ввести тот или иной из безвредных индикаторов, принятых в бактериологической практике. Изменение в окраске индикатора дополнительно свидетельствует о кислотообразующей способности развивающихся бактерий. При выявлении резко угнетенных бактерий возможно вначале произвести высев в капустную или автолизат-глюкозную среду без спирта, а отсюда при появлении признаков размножения (обычно через двое суток) — в ту же среду, но со спиртом.

Выводы

1. Устойчивость молочнокислых бактерий к спирту выше, чем у дрожжей, так же как кислотоустойчивость у значительной части последних (из рода Saccharomyces) больше, чем у молочнокислых бактерий.

Взаимное глубокое приспособление к высоким концентрациям продуктов брожения выработалось в процессе совместной эволюции данных микроорганизмов и является одним из факторов, обуславливающих стойкость их «защитных сообществ».

2. Продолжительность выживания молочнокислых бактерий без пересевов в средах с высокими концентрациями спирта в несколько раз длительнее, чем в средах без спирта, что объясняется значительным торможением как процессов размножения, так и накопления продуктов брожения и использования питательных ресурсов.

3. Высокая спиртоустойчивость молочнокислых бактерий, являющаяся одним из характерных свойств данной группы, положена в основу ряда удобных и простых методов их исследования, изложенных в настоящей работе. Действительно элективными для молочнокислых бактерий являются среды с содержанием высоких концентраций спирта (обычно 15 об%), не допускающих развития посторонних микроорганизмов.

Среднеазиатский филиал Всесоюзного
научно-исследовательского
института «Магарач»
Институт сельского хозяйства
Академии Наук УзССР

Получено 21.1.1951 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Забродский А. Т. Борьба с потерями от инфекции на спиртовых заводах. Гостехиздат Украины, 1950.
2. Квасников Е. И. Бактериальные болезни вин с высоким содержанием спирта. Виноделие и виноградарство СССР, № 2, 7, 1947.
3. Квасников Е. И., Кондо Т. Ф. и Аряшкина П. П. К характеристике болезней вин Средней Азии. Виноделие и виноградарство Средней Азии, вып. 1, 88, 1948.
4. Квасников Е. И. и Аряшкина П. П. Новое в изучении болезней вин, Виноделие и виноградарство СССР, № 10, 26, 1949.
5. Квасников Е. И. Бактериальные болезни крепких и десертных вин. Изд. Среднеазиатского филиала ВНИИВиВ «Магарач», Ташкент, 1949.
6. Квасников Е. И. Борьба с заболеванием вин при резервуарной шампанизации. Виноделие и виноградарство СССР, 2, 17, 1951.
7. Fornachon J. Bacterial spolage of fortified wines. Adelarde, Australian wine Board, 1943.
8. Müller-Thurgau u. Osterwalder, Die Bakterien im Wein und die dadurch verursachten Veränderungen, Jena, 1913.

О ФИКСАЦИИ АТМОСФЕРНОГО АЗОТА ВОЗБУДИТЕЛЯМИ МОЧКИ ЛЬНА GRANULOBACTER PECTINOVORUM и BAC. FELSINEUS

В. А. Алексеев

Сведения о фиксации атмосферного азота возбудителями мочки льна имеются лишь в небольшом числе работ.

Бредеман (Bredemann [9]) установил, что Granulobacter pectinovorum способен связывать атмосферный азот. Омелянский [7] также относит Gr. pectinovorum к группе азотфиксирующих бактерий. Корсакова и Никитина [5] отмечают слабую азотфиксирующую способность Gr. pectinovorum. Бычковская [2] показала, что Bac. felsineus может фиксировать атмосферный азот. По данным Розенблюм и Вильсон (Rosenblum and Wilson [12]), из 15 штаммов Clostridium наиболее активными фиксаторами азота оказались три вида: Cl. pasteurianum, Cl. felsineum, Cl. pectinovorum.

В задачу настоящей работы входила сравнительная характеристика Gr. pectinovorum и Bac. felsineus как фиксаторов атмосферного азота.

Для опытов применялись синтетическая среда Виноградского, приготовленная на дестиллированной воде с 0,1% K_2HPO_4, 0,05% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 1% глюкозы, 1% очищенного мела, следов Fe и Mn, и такая же среда, но с добавлением 0,2% агара (полужидкий агар). Этот вариант среды был выбран потому, что, по литературным данным (Муромцев [6]), прибавление небольших количеств агара к жидким средам оказывает стимулирующее действие на развитие анаэробных культур. Стерильные среды, разлитые в стеклянные цилиндры по 500 и по 250 мл, в целях регенерации прогревались перед посевом в течение часа при 60°. Исходный pH устанавливался равным 7,0. Засев производился четырехсуточными культурами первой генерации Gr. pectinovorum № 10 на картофельной среде с мелом и Bac. felsineus № 1758 на крапивной среде. Для каждой культуры засевалось по 10 цилиндров с жидкой средой и с полужидким агаром. Всего было засеяно 40 цилиндров (из них с 500 мл среды — 29 и с 250 мл — 11). Посевной материал вносился в количестве не менее 0,5% от объема среды и содержал в среднем 1,2—0,8 мг общего азота. Посевы выдерживались в термостате при 35°. Общий азот определялся по Кьельдалю (полумикро- и микровариванты), летучие кислоты — по Дюкло, сахар — по Бертрану, pH — электрометрическим способом. Результаты опытов почти во всех случаях учитывались после появления отрицательной реакции на сахар. Первые признаки развития на жидкой среде были отмечены для Gr. pectinovorum на 12—15-й день и для Bac. felsineus на 8—10-й день. Рост на полужидком агаре начинался раньше на 3—4 дня. В некоторых цилиндрах наблюдалась остановка развития и имело место замедленное потребление сахара в культуре, особенно в начальной стадии, несмотря на одинаковые условия культивирования и тождественные количества внесенного посевного материала. Подобные же явления были отмечены Виноградским при развитии Cl. pasteurianum на безазотистой среде [3]. Как правило, в бактериальных осадках из культур на безазотистых средах за весь период развития никогда не наблюдались спороносные клетки и свободнолежащие споры. В культурах Gr. pectinovorum и Bac. felsineus преобладали зернистые клетки. Напрашивается предположе-

ние, хотя еще и недостаточно подкрепленное наблюдениями, что между интенсивностью фиксации азота и количеством зернистых форм может существовать прямая зависимость, поскольку с уменьшением размеров частиц возрастает их удельная поверхность. Очевидно, количество усвоенного азота должно находиться в прямой зависимости от величины активной поверхности. Работами Федорова [8] доказана роль активной поверхности и специфических катализаторов в процессе фиксации атмосферного азота бактериальной клеткой. В этой связи появление зернистых форм в культурах на безазотистых средах, видимо, носит приспособительный характер и способствует большему накоплению азота. При посеве осадков из цилиндров на стерильные снопики льна в высоких пробирках в разные периоды развития культур мы всегда наблюдали полную вымочку и типичные иодофильные палочки в мазках. В прилагаемых таблицах приводятся лишь выборочные данные из 10 параллельных опытов для каждого варианта. Табл. 1 содержит данные о накоплении летучих кислот и о приросте атмосферного азота в культурах Gr. pectinovorum на жидкой среде Виноградского и на полужидком агаре.

Таблица 1

Количество связанного азота атмосферы и образованных летучих кислот в культурах Gr. pectinovorum на 100 мл культуры

Питательная среда	Продолжительность опыта в днях	pH	Летучие кислоты в мг			Отношение уксусной к масляной	Фиксация атмосферного азота в мг			% использованного сах ра
			масляная	уксусная	сумма		количество общего азота	контроль	прирост азота на 1 г сахара	
Жидкая синтетическая среда Виноградского	27	5,81	49,12	78,81	127,9[illegible]	1,60	3,60	2,31	1,29	100
	28	5,80	57,12	68,21	125,[illegible]	1,19	7,[illegible]1	3,24	4,07	100
	29	6,24	27,81	39,41	67,22	1,41	5,80	1,33	4,47	100
	40	6,18	37,21	42,10	79,[illegible]1	1,13	4,60	2,31	2,29	100
Полужидкий агар	19	5,14	78,15	98,21	176,[illegible]6	1,25	7,04	4,19	2,85	100
	19	5,10	63,75	91,46	155,21	1,43	10,25	4,67	5,58	100
	21	4,92	87,12	114,15	201,27	1,[illegible]1	9,[illegible]2	5,04	4,28	100
	22	6,48	41,29	62,19	103,48	1,50	7,67	3,25*	4,42	100

* Азот в контроле относится за счет азотистых примесей, содержащихся в ингредиентах питательных сред.

Сравнение результатов опытов, приведенных в табл. 1, показывает, что прирост общего азота и накопление летучих кислот (уксусной и масляной) на среде с полужидким агаром больше, чем на жидкой среде Виноградского. Темп развития Gr. pectinovorum на среде с полужидким агаром также значительно ускорен.

Результаты опытов с Bac. felsineus сведены в табл. 2.

При сравнении выборочных — минимальных и максимальных величин прироста азота на жидкой среде Виноградского и полужидком агаре, приведенных в табл. 2, видно, что почти во всех случаях на полужидком агаре минимальные и максимальные количества связанного азота выше, чем на жидкой среде Виноградского. Количество образовавшихся летучих жирных кислот и интенсивность развития значитель-

Таблица 2

Количество связанного азота и образованных летучих кислот в культурах Bac. felsineus № 1758 на 100 мл культуры

Питательная среда	Продолжительность опыта в днях	pH	Летучие кислоты в мг			Отношение уксусной к масляной	Фиксация атмосферного азота в мг			% использованного сахара
			масляная	уксусная	сумма		количество общего азота	контроль	прирост азота на 1 г сахара	
Жидкая синтетическая среда Виноградского	26	6,00	24,71	57,61	82,32	2,33	9,58	2,31	7,27	100
	28	5,80	81,19	95,61	176,80	1,17	9,33	2,52	6,81	100
	28	6,14	32,91	50,52	83,43	1,53	10,75	1,40	9,35	100
	30	6,12	72,52	32,82	105,34	0,45	4,44	2,03	2,41	100
Полужидкий агар	18	6,12	57,18	119,71	176,89	2,09	6,36	3,23	3,13	100
	19	5,41	98,90	115,14	214,04	1,16	6,23	3,24	2,99	100
	20	5,18	141,12	152,71	293,83	1,08	12,26	4,07	8,19	100
	21	5,51	98,17	119,16	217,33	1,21	15,75	4,63*	11,12	100

* См. сноску к табл. 1.

но выше на среде с полужидким агаром. Аналогичный вывод может быть сделан при сопоставлении данных табл. 1 для Gr. pectinovorum.

Введение в жидкую среду коллоидального вещества — агара — стимулирует развитие бактерий и повышает фиксацию атмосферного азота, что видно из табл. 3, в которой приводятся сравнительные данные, взятые из табл. 1 и 2. Факт положительного влияния различных коллоидальных веществ на связывание атмосферного азота Cl. pasteurianum отмечен в литературе (Омелянский [7]).

Таблица 3

Сравнительные количества фиксированного азота и образованных летучих жирных кислот Gr. pectinovorum № 10 и Bac. felsineus № 1758 на жидкой среде Виноградского и на полужидком агаре на 100 мл культуры

Культура	Фиксация атмосферного азота в мг на 1 г глюкозы				Количество летучих кислот в мг			
	жидкая среда		полужидкий агар		жидкая среда		полужидкий агар	
	наименьшая	наибольшая	наименьшая	наибольшая	наименьшая	наибольшая	наименьшая	наибольшая
Gr. pectinovorum № 10 . . .	1,29	4,47	2,85	5,58	67,22	127,93	103,48	201,27
Bac. felsineus № 1758	2,41	9,35	2,99	11,12	82,32	176,80	176,89	293,83

Как можно видеть из табл. 1, 2 и 3, величины прироста общего азота у Bac. felsineus как на жидкой синтетической среде Виноград-

ского, так и на полужидком агаре значительно выше, чем у Gr. pectinovorum.

Количество летучих жирных кислот (масляной и уксусной), образовавшихся на жидкой среде и на полужидком агаре, и темп развития бактерий на этих средах также более высокие у Bac. felsineus. Это свидетельствует, что в биохимическом отношении Bac. felsineus более активен, чем Gr. pectinovorum. К подобному же выводу пришла Вольфсон [4] при сравнительной оценке биохимических свойств этих возбудителей. В культурах Bac. felsineus и Gr. pectinovorum на безазотистых средах мы ни разу не смогли обнаружить присутствие растворителей (ацетона и спиртов).

Прирост фиксированного азота, повидимому, непосредственно не связан с образованием летучих жирных кислот и их количественными соотношениями. В культурах Bac. felsineus и Gr. pectinovorum в большинстве случаев уксусная кислота преобладает над масляной кислотой. Омелянский [7] в свое время указал, что Gr. pectinovorum может быть сравниваем с Cl. pasteurianum как фиксатор атмосферного азота, хотя и дает несколько меньшую величину прироста фиксированного азота. По величине фиксирующей способности Bac. felsineus превосходит Gr. pectinovorum, как видно из настоящей работы. Известно, что для Cl. pasteurianum основным местообитанием является почва. Имеются основания считать, что специфическая микрофлора льна также почвенного происхождения. Bac. felsineus, как и другие близкие к нему хромогенные анаэробы (Cl. corallinum), были выделены из почвы в различных широтах земного шара и, повидимому, являются распространенными почвенными бактериями.

Прево с сотрудниками (Prévot [10, 11]) выделил Cl. corallinum из почвы во Франции и в Африке. Таким образом, можно предположить, что возбудители мочки льна Gr. pectinovorum и Bac. felsineus могут играть заметную роль в азотном балансе почвы как микроорганизмы, обогащающие почву связанным азотом. Однако этот вопрос еще совершенно не исследован, и несомненно перспективным окажется его глубокое и обстоятельное изучение. В процессе мочки льна методически нелегко, в силу ряда специфических условий, установить фиксацию атмосферного азота именно возбудителями мочки льна, но установление самого факта фиксации позволяет считать, как это и показано работой Бычковской [1], что азотный фонд мочильной жидкости может увеличиваться таким путем.

В заключение приношу глубокую благодарность проф. Г. Л. Селиберу за постоянный интерес и внимание к настоящей работе.

Выводы

1. Фиксация атмосферного азота Gr. pectinovorum и Bac. felsineus увеличивается в условиях культивирования на полужидком агаре.

2. Bac. felsineus связывает большее количество атмосферного азота и образует бо́льшие количества летучих жирных кислот, чем Gr. pectinovorum, как на жидкой среде, так и на полужидком агаре.

3. В условиях развития Gr. pectinovorum и Bac. felsineus на безазотистых средах (жидкая среда и полужидкий агар) растворители — ацетон и спирты не образуются.

Всесоюзный научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии
Ленинград

Получено 28.III.1950 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бычковская А. Л. Роль азотистых прибавок в процессе анаэробной мочки льна. Диссертация, Л., 1939, Гос. ордена Ленина университет им. А. А. Жданова.
2. Бычковская А. Л. Об азотистом питании Bac. felsineus. Микробиология, IX, вып. 7—8, 662, 1940.

3. Виноградский С. Н. Об усвоении свободного азота микробами. Арх. биол. наук, 3, 293, 1895.
4. Вольфсон И. А. Сравнительное биохимическое изучение Gr. pectinovorum и Bac. felsineus. Микробиология. VIII, вып. 6, 643, 1939.
5. Корсакова М. П. и Никитина Е. А. Значение ассоциации для азотного режима Gr. pectinovorum. ДАН СССР, 27, стр. 737, 1930.
6. Муромцев С. Н. Культивирование микроорганизмов на средах с физиологической вязкостью. Агробиология, 4, 97, 1946.
7. Омелянский В. Л. Связывание атмосферного азота почвенными микробами, Петроград, 1923.
8. Федоров М. В. Биологическая фиксация азота атмосферы. Москва, 1948.
9. Bredemann A. M. Bac. amylobacter A. M. Bredemann. Ztbl. Bakt., II, Abt., 23, 385, 1909.
10. Prévot A. R. et Raynaud M. Etude d'une nouvelle espèce anaérobie n. sp. Ann. Inst. Pasteur, 70, 182, 1944.
11. Prévot A. R. et Sansonnens R. Présence de Cl. corallinum P. et R. au Sénégal. Ann. Inst. Pasteur, 73, 1044, 1947.
12. Rosenblum E. D. and Wilson P. W. Fixation of isotopic nitrogen by Clostridium. J. Bact., 57, 413, 1949.

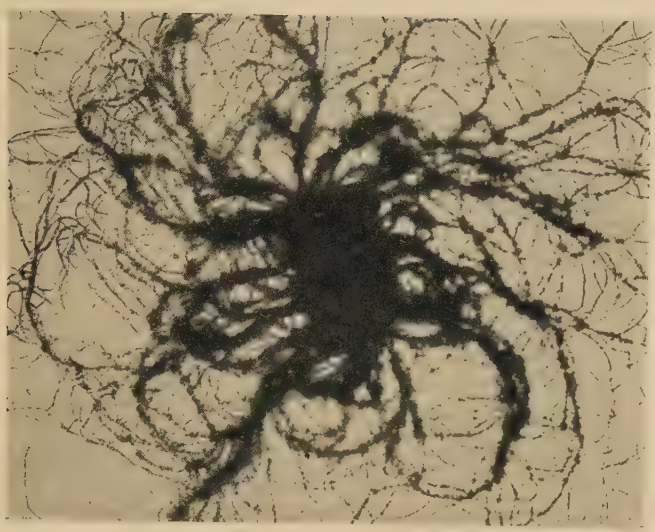


Рис. 1. Колония Bac. mycoides на МПА. Типичное закручивание жгутов, состоящих из множества нитей. × 25

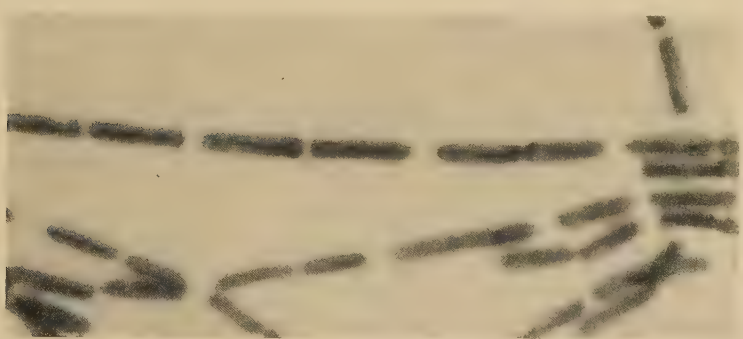


Рис. 2. Параллельно простирающиеся нити Bac. mycoides. Несмотря на отсутствие соединительных плазменных мостиков клетки прочно сохраняют линейное расположение. × 400

Рис. 3. Формирование молодой нити. Клетки Bac. mycoides окружены толстой студенистой трубкой-чехлом. × 2500

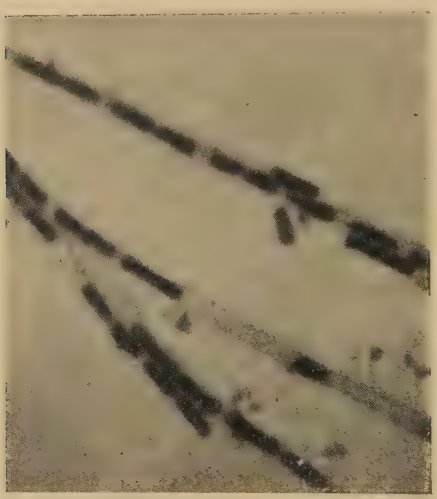


Рис. 4. Нить Bac. mycoides с пептонной воды. Клетки заключены в объединяющую трубку-чехол. × 1500

О СТРОЕНИИ BACILLUS MYCOIDES

В. О. Калиненко

Изучая бактериогенное формирование железо-марганцевых конкреций в грунтах Карельских озер, я изолировал чистую культуру Bac. mycoides Flügge. Узнать этот микроорганизм очень легко. Характерный рост его колоний на агаре общеизвестен (рис. 1).

Биохимические и культуральные свойства моего штамма идентичны описанным в самом крупном и новейшем русском определителе Красильникова.

При микроскопировании культур, выросших на МПБ, у меня возник следующий вопрос: почему клетки Bac. mycoides вытянуты в цепочку и прочно сохраняют это расположение, несмотря на то, что отдельные клетки не связаны между собой плазменными мостиками? Не объединяет ли их общая трубка?

На твердых средах существование трубки предугадывалось из следующей особенности роста: Bac. mycoides внедряется в толщу агаровых и желатиновых студней. Чем обусловлена эта высокая прободающая сила?

Затем, без трубки Bac. mycoides не мог бы образовывать завитков, изгибу которых подчиняются индивидуальные клетки нити.

У Bac. mycoides объединяющая трубка действительно обнаружилась. Прилагаемые фотографии это показывают (рис. 2, 3 и 4). При интенсивной окраске препаратов из жидких сред метиловым фиолетовым и правильной установке света всегда можно заметить эту деталь строения нити Bac. mycoides.

Bac. mycoides играет большую роль в процессах превращения азота в природе. Он не только обитатель плодородных почв, но и житель пресноводных и морских грунтов.

В Охотском море мы часто видели, что упругость нитей помогает этой протеолизирующей и аммонифицирующей бактерии внедряться в тела мертвых морских животных.

Bac. mycoides был объектом многих работ морфологического, экологического и агрономического направлений. Несомненно, и в будущем этот широкораспространенный, биохимически активный и морфологически легко узнаваемый микроорганизм будет предметом исследований. Возможно, что и систематическое положение Bac. mycoides будет изменено в связи с его сходством с представителями порядка Chlamydobacteriales.

Выводы

Нить Bac. mycoides состоит из цепочки клеток, вложенных в трубку. Объединяющая трубка (чехол-влагалище) придает цепочке клеток прочность и управляет ее изгибами.

Институт океанологии
Академии Наук СССР
Москва

Получено 26.X.1950 г.

ЛИТЕРАТУРА

Красильников Н. А. Определитель бактерий и актиномицетов. Изд-во АН СССР. Москва, 1949.

О ВЫЖИВАЕМОСТИ НЕКОТОРЫХ ГНИЛОСТНЫХ И ГНОЕРОДНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ В СТЕРИЛИЗОВАННЫХ ТЕРМИЧЕСКОЙ ОБРАБОТКОЙ ФРУКТОВЫХ СОКАХ

А. С. Заславский

Фруктовые соки представляют собой высокоценный пищевой продукт, широко рекомендуемый для детского и лечебного питания, в особенности при инфекционных заболеваниях.

Свежие растительные соки (апельсиновый, помидорный) с успехом применяются при лечении инфицированных ран и хронических язв (Соколов [6], Бровер [2]).

Аронов [1] с положительными результатами для тех же целей применял соки чеснока, лука, картофеля, моркови. Автор указывает также, что применение соков овощей, инактивированных кипячением, не давало результатов.

Корабельников и Гиммельфарб [4] отметили бактерицидность апельсинового и помидорного соков.

Токин [7] объясняет бактерицидность соков многих растений наличием в них фитонцидов.

Необходимо, однако, учитывать, что бактерицидность растительных соков может быть следствием повышенной концентрации водородных ионов, что и было показано в работе Рубинштейн [5].

Следует учесть также явление кислотной агглютинации (осаждение бактерий в изоэлектрической точке бактериального протеина [3]), наблюдаемой при прибавлении к взвеси бактерий кислот. Это явление обусловлено определенной концентрацией водородных ионов.

В вышеприведенных работах, касающихся бактерицидности растительных соков, указывается, что бактерицидными свойствами обладают только свежеотжатые соки. После кипячения овощные соки якобы утрачивают свои бактерицидные свойства.

Вопрос о том, сохраняют ли фруктовые соки при термической обработке свои бактерицидные свойства, имеет существенное значение.

Мы задались целью изучить выживаемость некоторых микроорганизмов в наиболее употребляемых фруктовых соках.

Для исследования были взяты следующие образцы фруктовых соков промышленного изготовления: яблочный, виноградный, абрикосовый с сахаром (8% сахара) и вишневый. Эти соки из заводской расфасовки в полулитровой стеклянной таре (Сокового завода имени Ленина в Одессе и Плодокомбината в Тирасполе) разливались по 10 мл в пробирки, после чего подвергались трехкратному нагреванию через день в течение 30 минут при 100°. Мы экспериментировали с культурами следующих видов микроорганизмов: B. prodigiosum, B. proteus vulgare, B. coli commune, B. fluorescens liquefaciens, B. pyocyaneum, стафилококк 209.

Из суточной культуры каждого микроорганизма на МПА производился смыв стерильной водопроводной водой; 0,2 мл полученной микробной взвеси вносились в пробирку с 10 мл стерильного фруктового сока.

Одновременно производился посев микробной взвеси на МПА в чашках Петри для подсчета количества микроорганизмов в 1 мл взвеси. После внесения микробной взвеси в пробирки с фруктовым соком последние ставились в термостат при 30—35°. Через 2 минуты, 1 час,

1 сутки из каждой пробирки стерильной пипеткой отбиралось по 0,5 мл, которые наливались на поверхность скошенного МПА. Пробирки с агаром ставились в термостат и просматривались в течение 10 суток ежедневно для определения наличия или отсутствия роста. Полученные результаты приведены в табл. 1, 2, 3, 4.

Таблица 1

Бактерицидность яблочного сока (pH = 3,6)

Наименование микроорганизмов	Количество бактерий в 1 мл внесенной взвеси	Результат высева на скошенный МПА, произведенного		
		через 2 минуты	через 1 час	через 1 сутки
B. prodigiosum	800 000 000	+	—	—
B. proteus vulgare	14 000 000	+	—	—
B. coli commune	20 000 000	+	—	—
B. fluorescens liquefaciens	600 000 000	+	—	—
B. pyocyaneum	2 000 000 000	+	—	—
Стафилококк 209	10 000 000	+	—	—

Примечание. В данной таблице, так же как и в последующих таблицах + обозначает наличие роста, — отсутствие роста.

Таблица 2

Бактерицидность виноградного сока (pH = 3,6)

Наименование микроорганизмов	Количество бактерий в 1 мл внесенной взвеси	Результат высева на скошенный МПА, произведенного		
		через 2 минуты	через 1 час	через 1 сутки
B. prodigiosum	100 000 000	+	—	—
B. proteus vulgare	200 000 000	—	—	—
B. coli commune	70 000 000	+	+	—
B. fluorescens liquefaciens	600 000 000	—	—	—
B. pyocyaneum	200 000 000	+	+	—
Стафилококк 209	100 000 000	+	+	—

Таблица 3

Бактерицидность абрикосового сока с сахаром (pH = 3,8)

Наименование микроорганизмов	Количество бактерий в 1 мл внесенной взвеси	Результат высева на скошенный МПА, произведенного		
		через 2 минуты	через 1 час	через 1 сутки
B. prodigiosum	15 000 000 000	+	+	—
B. proteus vulgare	31 000 000	+	—	—
B. coli commune	63 000 000 000	+	+	—
B. fluorescens liquefaciens	6 000 000 000	+	—	—
B. pyocyaneum	20 000 000 000	+	—	—
Стафилококк 209	7 000 000 000	+	+	—

Таблица 4

Бактерицидность вишневого сока (pH = 3,2)

Наименование микроорганизмов	Количество бактерий в 1 мл внесенной взвеси	Результат высева на скошенный МПА, произведенного		
		через 2 минуты	через 1 час	через 1 сутки
B. prodigiosum	27 000 000	+ *	+ *	—
B. proteus vulgare	7 000 000	—	—	—
B. coli commune	8 400 000 000	+ *	+ *	—
B. fluorescens liquefaciens	32 000 000 000	+ *	—	—
B. pyocyaneum	13 000 000	+	+ *	—
Стафилококк 209	2 000 000 000	+	—	—

* Выросли единичные колонии.

Как видно из табл. 1, 2, 3 и 4, все исследованные соки обладают по отношению к гнилостным и гноеродным бактериям явно выраженными бактерицидными свойствами. Наиболее чувствительным оказался B. proteus vulgare, который не давал роста после двухминутной экспозиции в виноградном и вишневом соках и часовой экспозиции в абрикосовом и яблочном соках. B. prodigiosum не давал роста после часовой экспозиции в яблочном и виноградном соках и суточной экспозиции в абрикосовом и вишневом соках. Кишечная палочка не была обнаружена в яблочном соке после часовой экспозиции, в виноградном, абрикосовом и вишневом — после суточной экспозиции. Весьма чувствительным оказался B. fluorescens liquefaciens, который не был обнаружен после заражения виноградного сока через 2 минуты, а яблочного, абрикосового и вишневого через 1 час. Палочка синезеленого гноя не давала роста после пребывания в яблочном и абрикосовом соках в течение часа, в виноградном и вишневом соках в течение суток. Стафилококк 209 не обнаруживался в яблочном и вишневом соках после часовой экспозиции, в виноградном и абрикосовом после суточной экспозиции.

Необходимо указать, что в то время как виноградный и вишневый соки, с которыми мы работали, были прозрачные, яблочный и абрикосовый соки содержали большое количество взвешенных веществ. Таким образом, в последних двух соках могла иметь место адсорбция бактерий. Кроме того, в процессе производства соки соприкасаются с металлом, что также может сказаться на их бактерицидности.

Для выяснения влияния этих факторов были поставлены следующие два опыта.

1. Яблочный сок заводского изготовления (тот же образец, что применялся в предыдущем опыте) был несколько раз профильтрован через бумажный фильтр до прозрачности. В дальнейшем применялась та же методика, что и в предыдущих опытах. Результаты были получены следующие (табл. 5).

Как видно из табл. 5, прозрачный яблочный сок также обладает резко выраженными бактерицидными свойствами.

2. Из яблок «Кальвиль красный осенний» был приготовлен лабораторным способом сок. При очистке от кожицы и измельчении применялась фарфоровая ложечка. Сок отжимался через марлю. Таким образом, сок при изготовлении не соприкасался с металлическими предметами. В дальнейшем применялась та же методика, что и в предыдущих опытах. Результаты приведены в табл. 6.

Таблица 5

Бактерицидность отфильтрованного яблочного сока (pH = 3,6)

Наименование микроорганизмов	Количество бактерий в 1 мл внесенной взвеси	Результаты высева на скошенный МПА, произведенного		
		через 2 минуты	через 1 час	через 1 сутки
B. prodigiosum	5 000 000 000	+	+*	—
B. proteus vulgare	2 000 000 000	+*	+*	—
B. coli commune	1 500 000 000	+	+*	—
Стафилококк 209	4 500 000 000	+	+	—

*. В этих случаях на скошенном агаре выросли единичные колонии.

Таблица 6

Бактерицидность яблочного сока, приготовленного без соприкосновения с металлами (pH = 3,8)

Наименование микроорганизмов	Количество бактерий в 1 мл внесенной взвеси	Результаты посева на скошенный МПА, произведенного		
		через 2 минуты	через 1 час	через 1 сутки
B. prodigiosum	5 000 000 000	+	+	—
B. proteus vulgare	63 000 000 000	—	—	—
B. coli commune	9 000 000 000	+	+	—
Стафилококк 209	4 500 000 000	+	+	—

Как видно из данных табл. 6, влияние металлов на свойства яблочного сока может считаться исключенным.

Параллельно с вышеописанными опытами мы производили заражение микроорганизмами тех же соков, но предварительно нейтрализованных аммиаком. Методика была та же, что и в предыдущих опытах. Были получены следующие результаты.

Яблочный сок неосветленный. При пересеве на МПА через сутки был обнаружен рост всех исследованных культур, за исключением B. proteus vulgare, который был обнаружен лишь через час после заражения и не дал роста через сутки.

Яблочный сок «Кальвиль красный осенний». При пересеве на МПА B. prodigiosum и B. proteus vulgare не дали роста через сутки. B. coli commune и стафилококк 209 дали рост в виде единичных колоний.

Виноградный сок. При пересеве через сутки на МПА был обнаружен рост B. fluorescens liquefaciens, B. coli commune и стафилококк 209 (в виде единичных колоний), не был обнаружен B. prodigiosum; B. proteus vulgare не был обнаружен после экспозиции в 1 час.

Абрикосовый сок с сахаром. При пересеве через сутки на МПА был обнаружен рост всех исследованных шести культур.

Вишневый сок. При пересеве через сутки на МПА был обнаружен рост B. prodigiosum, B. pyocyaneum, стафилококк 209. Не было обнаружено роста B. proteus vulgare, B. coli commune, B. fluorescens liquefaciens.

Из данного опыта следует, что при нейтрализации аммиаком исследованных соков резко снижаются их антисептические свойства. Все же в неосветленном яблочном соке B. proteus vulgaris не был обнаружен через сутки после заражения. В виноградном соке этот же микроорганизм не был обнаружен через час, а B. prodigiosum — через сутки. В вишневом соке после экспозиции в течение суток B. proteus vulgare, B. coli commune, B. fluorescens liquefaciens не были обнаружены.

Поскольку известно, что существует неспецифическая кислотная агглютинация, мы попытались проверить, не обладают ли таким свойством термически обработанные фруктовые соки. Для опыта мы взяли виноградный сок. Яблочный и абрикосовый оказались для этой цели непригодными, так как большое количество взвешенных веществ мешает наблюдению, вишневый же сок также мало пригоден вследствие своей темной окраски.

Проведенные опыты показали, что виноградный сок вызывает через несколько минут воздействия резкую агглютинацию внесенных в него бактериальных взвесей B. prodigiosum, B. proteus vulgare, B. coli commune, B. fluorescens liquefaciens, B. pyocyaneum, стафилококк 209.

Выводы

1. При исследовании выживаемости некоторых микроорганизмов во фруктовых соках выявилось, что фруктовые соки промышленного производства (яблочный, виноградный, абрикосовый с сахаром, вишневый), стерилизованные троекратной термической обработкой при 100° в течение 30 минут, обладают резко выраженными бактерицидными свойствами по отношению к ряду бактерий (B. prodigiosum, B. proteus vulgare, B. coli commune, B. pyocyaneum, B. fluorescens liquefaciens, стафилококк 209).

2. При нейтрализации указанных соков аммиаком бактерицидные свойства их резко снижаются.

3. Виноградный сок обладает способностью агглютинировать испытанные нами микроорганизмы.

Одесский технологический институт
пищевой и холодильной промышленности

Получено 11.XI.1950 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аронов М. Влияние соков овощей на заживление ран. Хирургия, № 10, 1938
2. Бровер В. Лечение длительно незаживающих ран апельсиновым соком у амбулаторных больных. Хирургия, № 10, 1938.
3. Зильбер А. А. Основы иммунитета. М., 1948.
4. Корабельников И. и Гиммельфарб Я. О влиянии помидорного и апельсинового соков на микрофлору инфицированных ран. Хирургия, № 10, 1938.
5. Рубинштейн Ю. И. Выживаемость кишечной палочки (B. coli commune) в морсе. Микробиология, V, вып. 2, 1936.
6. Соколов Н. Лечение инфицированных ран и хронических язв помидорным и апельсиновым соками. Хирургия, № 10, 1938.
7. Токин Б. П. Фитонциды. Очерки об антисептиках растительного происхождения. М., 1948.

АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫЕ СВОЙСТВА ЛЕЧЕБНЫХ ГРЯЗЕЙ И УСЛОВИЯ ИХ ФОРМИРОВАНИЯ

О. Ю. Волкова

Изучению биологических свойств лечебных грязей в течение продолжительного времени не было уделено должного внимания, несмотря на большое практическое значение этого вопроса в бальнеологии.

В 1943—1944 гг. автору данного сообщения удалось впервые с полной отчетливостью доказать прямое антибактериальное действие лечебной Тамбуканской грязи по отношению к ряду патогенных и условно патогенных микробов.

Обнаружению антибактериальных свойств Тамбуканской грязи способствовала примененная нами методика исследования, совершенно отличная от той, которая была обычно использована для выяснения этого вопроса предшествующими авторами (Иванов [6]; Свешникова [10]; Рубенчик [8]; Азбелев, Игнатович и Богатая [1]; Дволацкая-Барышева и Курдюмова [4]).

Результаты этих исследований послужили предметом предварительного сообщения в 1944 г. (Волкова и Балабанова [2]).

Большое число опытов, проведенных нами в микробиологической лаборатории Государственного бальнеологического института (несколько тысяч), в результате которых было установлено антибактериальное действие Тамбуканской грязи, убедило что мы имеем дело не с случайным явлением, а с вполне закономерным.

Детальный анализ, проведенный с Шинкаренко [3] по искусственному расчленению сложного грязевого субстрата на отдельные, составляющие его компоненты, показал, что главным, ведущим бактерицидным фактором в грязи является сложный органический комплекс. Конечно, это не исключает значения и других факторов, как то: солей, тяжелых металлов в микродозах, сероводорода, возможно бактериофага и т. д. Однако эти агенты в изолированном виде и даже в совокупности оказывают лишь весьма незначительное антибактериальное действие, далеко не эквивалентное действию самого грязевого субстрата, что не дает основания придавать им решающее значение. Грязевые же экстракты, извлеченные из грязи по методике, разработанной Шинкаренко, оказывают наиболее резко выраженное антибактериальное действие, превосходящее по силе действие самой грязи. Поэтому этот комплекс органических веществ и можно считать ведущим звеном в общей сумме бактерицидных факторов грязи.

В трансформации сложных органических материалов растительного и животного происхождения, ежегодно накапливающихся в грязевых озерах, выдающуюся роль играют микроорганизмы самой грязи. Однако в связи с своеобразием условий, в которых протекает жизнедеятельность микроорганизмов в такой анаэробной и сильно минерализованной среде, как грязевая, распад органических веществ не доводится микроорганизмами до полной минерализации, и поэтому в грязи могут накапливаться продукты неполного их распада. Вот эти-то продукты неполного распада растительных и животных остатков, повидимому, и входят в состав сложного органического комплекса смолообразного характера, извлекаемого из грязи. Сюда же могут входить и продукты микробного синтеза.

Задачей наших дальнейших исследований являлось выяснение условий и динамики формирования антибактериальных свойств лечебной грязи, участие микроорганизмов в этом процессе и более детальная химическая характеристика бактерицидного смолообразного вещества.

Важно было также установить известное соответствие между динамикой микрофлоры, с одной стороны, и изменчивостью антибактериальных свойств самой грязи и грязевых экстрактов — с другой.

Краткие результаты проведенной в этом направлении работы и составляют содержание настоящего сообщения.

Методика

Определение антибактериальных свойств грязевого субстрата велось чашечным методом, т. е. путем накладывания комочков грязи на поверхность агаровых пластинок, засеянных различными тест-микробами.

Такая методика применена в отношении лечебных грязей впервые нами, так как грязевые «аппликации», описанные Рубенчиком [8], представляют нечто иное. В опытах Рубенчика полоски грязи накладывались на уже развившиеся культуры испытуемых микробов, причем образования бактериостатических зон не наблюдалось, а изучалось состояние культур после снятия грязи, в которых отмечались явления лизиса. В качестве индикаторных организмов нами были использованы культуры микробов, выделенные из раневого отделяемого, и некоторые другие. Для опытов отбирались только те культуры, которые проявляли чувствительность к грязи. Среди них были: Staph. aureus, Staph. albus, Sarcina lutea, Bact. coli, Bact. pyocyaneum, Proteus vulgaris, Bac. mycoides и др.

С целью получения наиболее сравнимых результатов чашки Петри для опытов брались всегда одинакового диаметра, среда использовалась одна и та же и наливали ее по 15 мл для получения слоя одинаковой толщины. Поверхность агаровых чашек засеивалась сплошным «газоном» 4—5-часовыми (бульонными) культурами тест-микробов, причем для засева бралась одна стандартная петля культуры и равномерно размазывалась стеклянным шпателем. На поверхность таких засеянных чашек наносился комочек грязи весом в 1 г и диаметром 1 см. Через 18—24 часа пребывания в термостате регистрировались результаты измерением радиуса образовавшейся стерильной зоны. Большей частью зоны являлись совершенно стерильными, в ряде случаев в стерильной зоне имелись отдельные чрезвычайно мелкие, пылевидные колонии индикаторного микроба, в то время как на периферии зоны они были крупными и хорошо развившимися.

Кроме определения антибактериальной активности грязи по образованию зон вокруг комочков грязи, нами проводилось также изучение ее микрофлоры и исследование активности грязевых вытяжек, полученных из разных проб грязи. Антибактериальная активность вытяжек определялась путем нанесения на засеянные микробами чашки стандартных кружочков стерильной марли, смоченной вытяжками, а также обычным методом титрования в пробирках. Изучение микрофлоры грязи проводилось высевом взвеси ее в стерильной водопроводной воде на поверхность чашек с различными питательными средами: обычный МПА, МПА с прибавлением 2% хлористого натрия (pH = 8,4), МПА, приготовленный на озерной воде (рапе), среда Чапека, крахмало-аммиачный агар.

Нами изучались три группы микроорганизмов: бактерии, актиномицеты, плесневые грибы. Для подсчета развившихся колоний чашки выдерживали в термостате при 30° 10 суток, так как наблюдение показало, что колонии грязевых микробов развиваются медленно и только через 10 суток достигают полного развития. Через два-три дня, которые обычно приняты для подсчета микроорганизмов грязи, развивается только сравнительно небольшая часть колоний. Количество и процент антагонистов среди микроорганизмов грязи выявились следующим образом: все различающиеся колонии, развивающиеся на чашках с различными средами, микроскопировались, отвивались в чистые культуры и испытывались на антагонистическую способность чашечным методом. В случае медленно развивающихся культур (актиномицеты, плесневые грибы и др.) культура испытывалась вместе с кусочком агара, в который диффундировали антибактериальные вещества.

Химическое изучение вытяжек проводилось в физико-химической лаборатории Государственного бальнеологического института под руководством Шинкаренко.

Сезонные колебания антибактериальной активности грязи

Первые наши исследования, в результате которых были обнаружены бактерицидные свойства Тамбуканской грязи, производились осенью. Дальнейшие наблюдения показали, что грязь, извлеченная из озера зимой, ранней весной и особенно перемерзшая при хранении на холоду (во время морозов до 20°), является мало активной или даже теряет свои антибактериальные свойства. Вокруг комочков такой грязи антибактериальные зоны совсем не образуются или образуются очень слабые с радиусом в 0,1—0,2 см. Активная грязь дает обычно совершенно стерильные зоны с радиусом от 0,5 до 1—1,5 см, что и представлено на рисунке 1 и 1а.

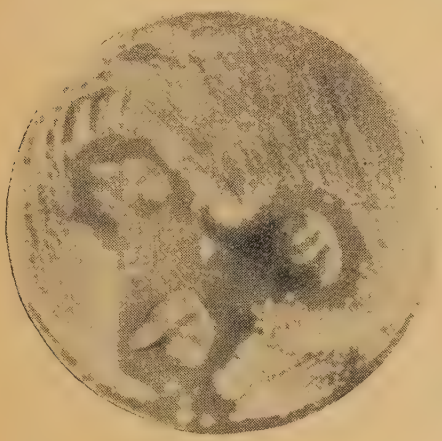


Рис. 1. Стерильные зоны подавления роста вокруг комочков грязи на газоне золотистого стафилококка

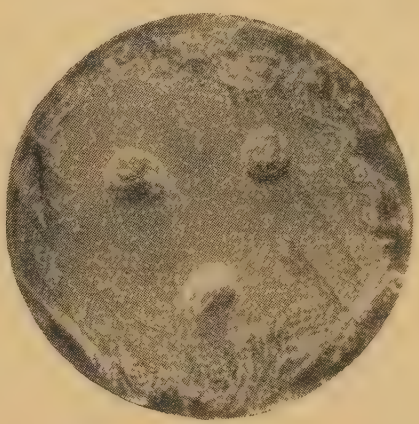


Рис. 1а. Отсутствие зон подавления роста вокруг комочков неактивной грязи на газоне золотистого стафилококка

Трехлетние наблюдения на Тамбуканском озере в разное время года с полной убедительностью показали, что сезонные колебания в антибактериальной активности грязи — явление вполне закономерное и постоянное. Согласно полученным данным, наиболее резко выраженной антибактериальной активностью обладает грязь, извлеченная из озера в разгаре лета (с конца июня) и до глубокой осени, до ноября включительно. Наименее активна грязь, вынутая из озера зимой и ранней весной (март и апрель). В мае грязь обладает средней степенью активности.

Количественное и качественное изучение микрофлоры грязи в разные сезоны года и антибактериальной активности вытяжек из нее выявило существование определенной корреляции между антибактериальной активностью самой грязи, количеством микроорганизмов и активностью вытяжек (табл. 1). Указанная корреляция является хорошим аргументом в пользу признания биологической природы антибактериальных свойств лечебной грязи. Чем же можно объяснить изменение антибактериальных свойств грязи в связи с годовыми циклами? Наиболее вероятным объяснением наблюдаемых фактов нам представляется следующее: в летнее время в связи с пышной вегетацией водорослей и простейших происходит накопление в озере органических веществ, накопление биомассы. Увеличение питательных ресурсов и повышение температуры создают оптимальные условия для развития микроорганизмов.

Многие из этих микроорганизмов являются антагонистами и, размножаясь в привычной для них среде, выделяют ядовитые продукты

своего обмена в грязевой субстрат. Эти продукты обмена, продукты распада сложных органических веществ и продукты микробного синтеза и составляют, повидимому, тот органический комплекс, который и придает грязи антибактериальные свойства; этот комплекс можно из нее извлечь.

Осенью, когда наступает отмирание богатой водной растительности и органических остатков, служащих питательным материалом для микроорганизмов, последних становится еще больше, несмотря на некоторое снижение температуры среды.

Возрастание количества микроорганизмов от весны к осени сопровождается возрастанием антибактериальной активности грязи (табл. 1). Наблюдавшаяся нами потеря антибактериальной активности перемерзшей грязи привела нас к мысли о возможности «восстановления» антибактериальных свойств.

Таблица 1

Сезонные колебания количества микрофлоры, антибактериальной активности грязи и антибактериальной активности грязевых вытяжек

Время взятия пробы грязи из озера	Количество микроорганизмов в 1 г грязи в тыс.	Антибактериальная активность грязи в % стерильных зон	Антибактериальная активность вытяжек в титрах		Количество бактерицидного вещества на 1 кг сухой грязи в г
			бактериостатический	бактерицидный	
24.V	160	40	1 : 6 000	1 : 3 330	3,02
7.VI	700	60	1 : 10 000	1 : 6 000	4,56
30.VI	990	90	1 : 12 000	1 : 6 000	Нет данных
29.VII	1 200	100	1 : 15 000	1 : 6 000	5,28
12.VIII	1 960	100	1 : 15 000	1 : 12 000	5,10
27.IX	4 260	100	1 . 30 000	1 : 12 000	6,02
18.XI	1 650	100	1 : 20 000	1 : 10 000	6,84

Поставленные опыты подтвердили наши предположения. Перемерзшая грязь, потерявшая свою антибактериальную активность, после выдерживания в течение двух недель в термостате при 30° начала давать бактериостатические зоны, что служило показателем восстановления ее антибактериальных свойств. Еще более заметные результаты мы получали при добавлении в малоактивную или совсем не активную грязь небольших количеств органических веществ (пептона, аспарагина, глюкозы, крахмала, водорослей и т. д.) и при выдерживании ее при 30°.

Такая «подкормка» инактивной грязи в подавляющем большинстве случаев приводила к резко выраженному усилению ее антибактериального действия. Количество микроорганизмов в такой грязи резко увеличивается в известные сроки и соответственно этому увеличиваются и антибактериальные свойства ее. Усиления антибактериальных свойств, как показали наши опыты, можно добиться также «подсевом» в грязь чувствительных к ее действию микробов, причем это сопровождается также увеличением числа грязевых микроорганизмов. Если суточную взвесь вирулентного золотистого стафилококка вносить в грязь каждые 4—5 дней в количестве 25 млн. на 1 г грязи, то он исчезает из нее через 1—2—3 суток. Общее количество микробов грязи при этом резко увеличивается по сравнению с исходным, и антибактериальные свойства усиливаются. При таком методе «подсева» также значительно возрастает в грязи и количество микробов-антагонистов и их процент по отношению к другим грязевым микробам, не имеющим выраженных антагонистических свойств. Если процент антагонистов в контрольном образ-

це грязи колеблется между 20—30, то после подсева он возрастает иногда до 50—60.

В табл. 2 приведены средние данные этих опытов.

Таблица 2

Грязь до подсева			Грязь после подсева		
количество микробов в 1 г в тыс.	антибактериальная активность в % стерильных зон	% антагонистов	количество микробов в 1 г в тыс.	антибактериальная активность в % стерильных зон	% антагонистов
520	28	20,2	1,600	90	54

Наибольшее количество микробов-антагонистов удалось выделить из грязи, применяя именно этот метод «подсева».

Антибактериальные свойства других лечебных грязей

Все наши первоначальные систематические исследования были проведены с Тамбуканской грязью. Считая, что выявленные нами биологические закономерности должны быть присущи и другим лечебным грязям, мы распространили исследования и на них. Взято было несколько грязей, отличающихся от Тамбуканской по солевой концентрации и по ионному составу. Тамбуканская грязь характеризуется преобладанием сульфатов над хлоридами и небольшой солевой концентрацией рапы (40—60 г/л сухого остатка). Для изучения были взяты грязи Сакская, Эльтонская, затем грязи Ставропольского края, Петровская и Баталпашинская, а также Кумагорская грязь на курорте Кумагорск.

Все эти грязи, кроме Кумагорской, относятся к грязям с высокой солевой концентрацией, имея сухой остаток от 183 до 115 г/л, и характеризуются преобладанием хлоридов над сульфатами. Грязь Кумагорская слабо минерализована и отличается присутствием значительного количества соды.

Изучение антибактериальных свойств всех этих грязей показало, что все они проявляют эти свойства в той или иной степени. Из табл. 3, на которой представлены данные опытов, можно видеть, что на первом месте по антибактериальному действию стоят Баталпашинская, Сакская, Тамбуканская и Петровская грязи, на втором — Эльтонская и на последнем — Кумагорская. Анализ действующих агентов показал, что и в данном случае ведущими оказались не соли, которые мы испытывали изолированно и в тех концентрациях, в которых они содержатся в грязях, а именно органический комплекс, в формировании которого главную роль играют микроорганизмы. Это положение подтверждается и тем, что солевой остаток, отделенный от грязевой вытяжки, при получении ее из грязи проявляет при опробовании едва заметный антибактериальный эффект, в то время как освобожденное от солей органическое вещество грязи оказывает резко выраженное антибактериальное действие.

Таким образом, нами было показано, что антибактериальными свойствами обладают и другие иловые грязи, и, по всей вероятности, в той или иной степени свойства эти присущи всем грязям.

Во всех исследованных грязях подробно была изучена их микрофлора по группам: бактерии, актиномицеты, плесневые грибы. Присутствие актиномицетов, хотя и упоминается некоторыми авторами, проводив-

Таблица 3

Антибактериальные свойства различных лечебных грязей

Наименование грязи	Количество исследований	Антибактериальная активность в % стерильных зон	
		к грамположительным микробам	к грамотрицательным микробам
Тамбуканская	803	89,3	11,4
Сакская	126	91,8	47,6
Баталпашинская	254	92,1	10,6
Петровская	228	84,9	11,8
Эльтонская	126	64,9	9,5
Кумагорская	164	44,6	0

шими микробиологическое изучение грязей (Исаченко [7]; Завьялов [5]; Рубенчик [8]), но подробных сведений о них, об их количественном распространении не имеется. По поводу обнаружения в грязях плесневых грибов данных еще меньше (Рубенчик [9]). Нами было проведено изучение количественного содержания микроорганизмов в грязях и количество и процентное содержание среди них антагонистов. Процент антагонистов среди бактериальных видов доходил до 25—30, среди актиномицетов — до 29 и среди плесневых грибов, преимущественно из рода пенициллиум,— до 50—60.

Однако, принимая во внимание, что наибольший удельный вес среди микроорганизмов грязи занимают бактерии, количество которых при учете выросших колоний на обычных питательных средах достигает нескольких миллионов в 1 г, надо полагать, что основную роль в выработке антибактериальных веществ играют именно бактерии. Наибольший процент антагонистов среди бактерий падает на спорообразующие виды из группы Bac. subtilis, Bac. mesentericus. Очень незначительное количество антагонистов обнаружено среди микрококков, сарцин, проактиномицетов и дрожжей. Количество актиномицетов колебалось в разных пробах грязи в пределах 20—200 тыс. в 1 г, а плесневых грибов — в пределах 5—200 тыс.

Длительность выживания патогенных микроорганизмов в Тамбуканской грязи

Следующий вопрос, который требовал разъяснения,— это причины расхождения результатов наших исследований с результатами исследований предшествующих авторов. Главная причина лежит в разных методах исследования, примененных нами и ими. Поэтому следовало провести параллельное исследование антибактериальных свойств Тамбуканской грязи как нашим методом грязевых комочков с определением стерильных зон, так и методом внесения тест-микробов в грязь с последующими высевами из нее в разные сроки. Такое изучение и было нами выполнено.

Оказалось, что весьма большое и даже решающее значение для выживания в грязи внесенных в нее бактерий играет температурный фактор, что специально не учитывалось прежними исследователями.

Как видно из табл. 4, при выдерживании опытных банок с «зараженной» грязью при 37 и 30° отмирание внесенных микробов происходит быстрее, чем при низких температурах: кокков и дифтероида через 1—2 суток, кишечной палочки — через 5—11 суток, брюшнотифозной и

паратифозной палочек — через 4—8 дней и синегнойной палочки — через 9—11 суток.

Таблица 4

Влияние различных температур на сроки отмирания патогенных бактерий в сутках

Виды микробов	37°	30°	22°	16°	14°	10°	7—8°	2—8°
Стрептококк	1	2	5	6	8	11	18	20
Стафилококк золот.	1	2	—	10	12	16	19	35
Дифтероид	2	2	—	10	—	11	19	20
Брюшнотифозная палочка	4	7	8	8	8	11	27	27
Паратиф А	5	5	6	11	12	11	27	—
Паратиф Б	6	8	8	12	16	17	45	50
Кишечная палочка	5	11	—	23	29	30	27	41
Синегнойная палочка	9	11	—	40	42	41	43	50

С понижением температуры хранения сроки отмирания соответственно удлиняются: при температуре +2 +8° они доходят для менее устойчивых форм до 20—35 суток, а для более устойчивых — до 40—50 суток.

Количественный учет микроорганизмов при высевах инфицированной грязи показал, что с самого начала происходит резкое уменьшение внесенных бактерий и кончается это полным исчезновением их. Прибавление к грязи органических веществ ускоряет сроки отмирания бактерий, что особенно заметно на фоне низких температур. Наши исследования по изучению антибактериальных свойств грязей чашечным методом показали, что грязи оказывают бактериостатическое действие преимущественно на грамположительные виды: (кокковые и палочковые) Corinebact. Hofmanni, Bac. mycoides, Bac. subtilis, представителей родов Streptococcus, Pneumococcus, Sarcina. На грамотрицательные виды: Bact. coli, Bact. pyocyaneum, Bact. typhi, Bact. paratyphi, Bact. dysenteriae, Bact. tularense, Bact. aborti inf. грязь обычно не оказывает бактериостатического действия или оказывает его в редких случаях, и то в слабой степени. На возбудителей анаэробных инфекций Bac. perfringens, Bac. oedematiens, Vibrio septicus, Bac. hystoliticus грязь оказывает слабое бактериостатическое действие. Что касается патогенных грибов — дерматомицетов, то грязь задерживает рост возбудителей трихофитии, эпидермофитии, микроспории, фавуса, но совершенно не влияет на рост гриба Oidium albicans. Такой же диапазон действия имеют и грязевые вытяжки.

Заканчивая свое сообщение, считаем нужным отметить практическое значение проведенных исследований для бальнеологии.

Установление наличия антибактериальных свойств у ряда лечебных грязей подводит научную базу под применение грязей для лечения инфицированных ран и других заболеваний, связанных с инфекциями (гинекологические заболевания, заболевания прямой кишки, кожные заболевания и т. д.), раскрывая одну из сторон механизма их действия.

Выводы

1. Установлены антибактериальные свойства Тамбуканской грязи и некоторых других лечебных грязей.

2. Выявлены сезонные колебания в антибактериальных свойствах Тамбуканской грязи. Показано, что наибольшей антибактериальной активностью грязь и вытяжки из нее обладают летом и осенью и наименьшая активность, вплоть до ее потери, наблюдается зимой и ранней весной.

3. Намечены биологические закономерности, лежащие в основе формирования антибактериальных свойств лечебных грязей. Полученные данные позволяют до известной степени направлять и усиливать природные процессы образования бактерицидных веществ в грязи.

4. Изучены оптимальные условия наиболее быстрого и полного биологического самоочищения грязи от попавших в нее патогенных микроорганизмов. Установлено, что при 30° и 37° и особенно при добавлении в грязь органических веществ происходит очень быстрое отмирание ряда патогенных микроорганизмов, внесенных в нее. При более низких температурах хранения грязи, особенно при +2° +8° сроки отмирания в ней патогенных бактерий значительно удлиняются, что имеет существенное практическое значение.

Государственный бальнеологический институт на Кавказских минеральных водах
Пятигорск

Получено 5.IX.1950 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Азбелев В. Н., Игнатович З. А. и Богатая В. П. Сборник Саки-курорт, вып. 1, 1935.
2. Волкова О. Ю. и Балабанова А. В. О бактерицидных свойствах Тамбуканской грязи. Микробиология, XIII, вып. 6, 1948.
3. Волкова О. Ю. и Шинкаренко А. Л. О механизме бактерицидного действия Тамбуканской грязи. Микробиология, XV, вып. 4, 1946.
4. Дволацкая-Барышева К. М. и Курдюмова О. П. Выживаемость патогенных микроорганизмов в иловых грязях в связи с их лечебным применением. Рукопись фондов Московского Центрального института курортологии 1933—1934 гг.
5. Завьялов В. В. К биохимии лечебных грязей. Одесса, 1916.
6. Иванов П. Г. Старорусские минеральные средства и болезнетворные микроорганизмы. Продолжительность выживания некоторых болезнетворных микроорганизмов в старорусской лечебной грязи и минеральной воде. Врачебная газета, № 25, 1912.
7. Исаченко Б. Л. Микробиологические исследования над грязевыми озерами Тр. Геологического комитета, 1927.
8. Рубенчик Л. И., Гойхерман Д. Г. и Райх Б. Я. О выживаемости болезнетворных бактерий в грязи и рапе Одесских лиманов. Тр. Укр. бальнеолог. ин-та, вып. 1, 1932.
9. Рубенчик Л. И. Микроорганизмы и микробиальные процессы в соленых водоемах УССР. Киев, 1948.
10. Свешникова И. А. К вопросу о бактерицидности Тамбуканской грязи Тр. Бальнеолог. ин-та на Кавказ. мин. водах, V. 1927.
11. Шинкаренко А. Л. К вопросу о химической природе бактерицидных веществ Тамбуканской грязи. Тр. Гос. бальнеолог. ин-та на Кавк. мин. водах, т. XXVI—XXVII, 1947.
12. Шинкаренко А. Л. Химическая характеристика бактерицидных веществ Тамбуканской грязи. Тр. Гос. бальнеолог. ин-та на Кавк. мин. водах, т. XXVIII, 1949.

БАКТЕРИЦИДНЫЕ СВОЙСТВА ПРОТАМИНОВ

П. Ф. Дьяченко и Т. Г. Романович

Среди веществ, проявляющих бактерицидные свойства по отношению к различным микроорганизмам, известны белки и продукты белкового обмена [4].

К таким белкам относится лизоцим, открытый русским ученым Лященко [3], который установил, что белок куриного яйца обладает способностью тормозить развитие и убивать ряд бактерий, как, например, Bac. subtilis.

Позднее было установлено, что лизоцим представляет собой белок с сильно щелочными свойствами и молекулярным весом около 17 000. Его изоэлектрическая точка лежит в сильно щелочной зоне около pH = 10,5—11,0.

Лизоцим по своим химическим свойствам напоминает протамин. Протамины представляют собой простые протеины, содержащиеся в зрелой сперме рыб [1], и обладают сильно щелочными свойствами. Ввиду некоторого сходства этих белков, возникло предположение, что протамин, так же как и лизоцим, может обладать антибактериальными свойствами.

Чтобы проверить это предположение, нами была сделана попытка изучить воздействие протамина на некоторые микроорганизмы.

Для исследования нами был получен от кафедры органической и биологической химии Московского рыбвтуза протамин-сульфат из молок осетра (стурин).

Водный раствор протамина с pH = 3,8 был нами обработан едким баритом для освобождения от серной кислоты. Осадок сульфата бария был удален фильтрованием. Полученный раствор свободного протамина показывал отрицательную реакцию на серную кислоту и барий и имел сильно щелочную реакцию (выше pH = 10,0).

Далее раствор протамина нейтрализовался соляной кислотой до pH = 6,9, и испытывался на бактерицидные свойства.

Для изучения чувствительности различных микроорганизмов к воздействию протамина нами засевался газон из испытуемой культуры в чашках Петри. Агар приготовлялся на среде Богданова [2] с гидролизатом казеина.

После застывания агара на него ставились вертикально стерильные короткие (10—12 мм) полые металлические цилиндрики, в которые при помощи пипетки наливался раствор протамина.

Через трое суток инкубации при соответствующей оптимальной температуре на хорошо развившемся газоне испытуемой культуры ясно обрисовывались зоны торможения роста вокруг каждого цилиндрика.

Нами совершенно отчетливо обнаружена чувствительность к протамину ряда грамположительных и грамотрицательных бактерий: Bac. subtilis, Bac. mycoides, Bac. mesentericus, Bact. coli commune, Streptococcus lactis.

Протамин действует угнетающе на Bac. subtilis, Bac. mesentericus, Bac. mycoides и Bact. coli commune.

При воздействии на молочнокислые стрептококки замечается некоторая стимуляция роста стрептококков вокруг металлических цилиндри-

ков. В отношении плесневых грибов выяснилось, что на Oidium lactis и Penicillium glaucum протамин никакого действия не оказывает.

Выводы

Проведены исследования бактерицидных свойств протамина (стурина).

Установлено, что стурин угнетает развитие одних микроорганизмов (Bac. subtilis, Bac. mycoides, Bac. mesentericus, Bact. coli commune) и стимулирует рост других молочнокислых бактерий (Str. lactis).

Стурин не проявляет антибиотических свойств по отношению к плесневым грибам Oidium lactis и Penicillium glaucum.

Всесоюзный научно-исследовательский институт молочной промышленности
Москва

Получено 6.IX.1950 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Александровская Н. С. Протамины некоторых видов рыб, Тр. Лаборатории по изучению белка и белкового обмена в организме, вып. VI, 54, 1934.
2. Богданов В. М. Новые методы приготовления питательных сред для анализа микрофлоры молока и молочных продуктов, Микробиология, XIX, вып. 2, 1950.
3. Лященко П. Über die keimtötende und entwicklungshemmende Wirkung von Hühnereiweiss. Z. Hyg. u. Infect., **64**, 419, 1909.
4. Шемякин М. М. и Хохлов А. С. Химия антибиотических веществ, Госхимтехиздат, 1949.

СУХИЕ КУЛЬТУРЫ БАКТЕРИЙ ДЛЯ БОРЬБЫ С ГРЫЗУНАМИ

В. Т. Бобович

Применяемые в дератизационной практике культуры бактерий Исаченко [1] и Мережковского изготовляются в жидком виде на дрожжевой, молочной и бульонной средах. Жидкие культуры, однако, обладают некоторыми недостатками, ограничивающими их применение, а именно: 1) они сохраняют свою патогенность не более 45—60 суток, при этом температура хранения не должна превышать +15°; 2) перевозка их затруднена и обходится дорого.

Широкое внедрение в практику бактериологического метода борьбы с грызунами поставило на очередь вопрос об изготовлении сухих культур, которые обладали бы большим сроком хранения и были бы удобны для пересылки. В настоящее время накоплено достаточно данных, свидетельствующих о том, что в условиях низких температур, а также в сухом состоянии микроорганизмы не утрачивают жизнеспособности. Так, например, Омелянским [7] были выделены живые бактерии, сотни лет находившиеся в почвах вечной мерзлоты. В 1926 г. им же было сделано сообщение [8], что Azotobacter chroococcum не утратил жизнеспособности и после 10—15 лет хранения на высохшей агаровой среде. Аналогичные наблюдения были сделаны в разное время и в отношении других культур, хранившихся в музеях и лабораториях без пересевов продолжительное время. Каптерев [5] оживлял микроорганизмы, пребывавшие в почвах вечной мерзлоты в состоянии анабиоза. Как полагают многие авторы, клетки бактерий, подвергнутые замораживанию или высушиванию, также находятся в анабиотическом состоянии. Лазаревым и Бересневой [6], Голубевой [4] и другими авторами экспериментально установлено, что культуры микробов споровых и бесспоровых, подвергнутые замораживанию, сохраняют жизнеспособность неопределенно долгое время. Так как вакцины и сыворотки, будучи сохраняемы в жидком виде, инактивируются, а микроорганизмы часто утрачивают свою активность в результате длительного культивирования на искусственных средах Флосдорф (Flosdorf [13]) Речменский [9] и другие, стремясь удлинить сроки активности тех и других, применили метод высушивания биологических объектов способом вымораживания. Беляев [2] и Гамова-Каюкова [3] использовали названный метод для изготовления в больших количествах бактериальных сухих препаратов — оспенного детрита и молочнокислых бактерий. Технология высушивания вымораживанием описана Титовым [10]. По исследованиям Голубевой [4], бактерии Исаченко и Мережковского, погибая при высоких температурах, сравнительно стойко выносят глубокое замораживание. Повторяя по нескольку раз циклы замораживания этих культур в жидком воздухе (—182°) и последующего оттаивания их, Голубева достигла сохранения и усиления патогенности этих бактерий. Опираясь на опыт перечисленных авторов, мы попытались получить сухие живые культуры бактерий Исаченко и Мережковского, высушивая их в замороженном состоянии.

Жидкие культуры бактерий Исаченко и Мережковского, которыми мы пользовались в качестве исходного материала для высушивания, проверялись предварительно на чистоту и биохимическую активность путем высева на углеводные среды — «пестрый ряд» — на среды Эндо и Штерна, мясо-пептонный агар и молоко. Определялся также титр исходных культур. Патогенность этих исходных культур устанавливалась на основании процента смертности среди подопытных крыс и мышей (крысам скармливались по 10 мл, мышам — по 1 мл культуры бактерий Исаченко, выращенной в течение суток при температуре +37°). Культурой Мережковского по 1 мл заражались только мыши. Отобрав наиболее активные культуры, мы подвергали их в дальнейшем высушиванию способом вымораживания. Здесь уместно отметить, что в результате испы-

[1] См. Прохоров [9].

тания различных сред — дрожжевой, бульонной, белковой и молочной — мы нашли, что наиболее пригодной средой для высушивания культур является сепарированное молоко.

Высушивание культур производилось следующим образом: подозно отмеренное количество жидкой культуры разливалось в стерильные ампулы так, чтобы они были заполнены не более чем на $^1/_3$. Ампулы помещались затем в смесь из льда или снега с поваренной солью (1 часть соли на 2 части льда или снега) при —20—21°. Стремясь заморозить культуру ровным слоем на внутренних стенках ампул, мы непрерывно вращали их в течение всего процесса замораживания. По окончании этого процесса горлышко ампулы соединялось при помощи каучуковой трубки с вакуум-аппаратом и заключенная в ампуле культура подвергалась высушиванию под вакуумом. В начале процесса высушивания мы поддерживали температуру охладительной смеси на уровне —20—21°. Можно заканчивать высушивание при комнатной температуре (+16°) и выше, лишь бы сохранялось достигнутое равновесие между испарением высушиваемого материала и поглощением паров конденсатором. По окончании сушки ампулы с сухой культурой запаивались под вакуумом и взвешивались. Выход сухой культуры составляет 10, 12% по отношению к весу исходной жидкой культуры. Высушенные культуры подвергались всестороннему анализу. Критерием доброкачественности высушенной культуры является ее быстрое растворение в воде без осадков и хлопьев, а также молочнобелый цвет порошка. Биохимические их свойства определялись по общепринятой методике. Расхождений со свойствами исходной культуры в общем не наблюдалось; иногда, впрочем, имело место замедленное кислото- и газообразование при разложении сахаров. Серологические свойства культуры определялись при помощи реакции агглютинации специфической сывороткой Гертнера. При микроскопировании бактерии, неподвижные в сухом состоянии, будучи смочены водой, тотчас же приходили в движение.

Помимо культур, выращенных на жидких средах, мы сушили также концентрированные культуры, содержавшие 20—30 млрд. клеток в 1 мл и более. Концентрирование культур осуществлялась нами следующим путем: плоские микробиологические матрацы заливались слоем мясо-пептонного агара (без соли) толщиной в 0,5 см. Этот агаровый слой засевался культурами Исаченко или Мережковского (1 мл на 200 см² поверхности), матрацы помещались в термостат на одни сутки при +37°. Через сутки с агара производился смыв либо стерильным обратом, либо суточной культурой на обрате. Полученная в результате смыва концентрированная культура весьма удобна в качестве исходного материала при сушке вымораживанием, так как в процессе замораживания, высушивания и хранения погибает некоторое количество клеток.

Пересевая сухие культуры в жидкие питательные среды, мы убедились в том, что замораживание и высушивание не влияют на репродуктивную способность высушенных бактерий и интенсивность их размножения. При пересеве сухих культур на твердые среды они размножались даже с большей интенсивностью (по крайней мере, в первой генерации), чем их исходные культуры. Аналогичное явление наблюдалось некоторыми авторами на культурах Bact. proteus 19, B. paratyphi B при перенесении голодающих культур на полноценный питательный агар.

При анализе культур на жизнеспособность оказалось, что из девяти проб, хранившихся под вакуумом, в шести по истечении шести месяцев количество живых бактерий в сухой культуре сохранилось от 46 до 92% по отношению к исходной культуре (табл. 1).

Проба Исаченко 7 через 12 месяцев сохранила 76% живых бактерий, проба Мережковского 5 через 24 месяца насчитывала 70% живых клеток. Высушенные культуры содержали 3—5% остаточной влажности.

Таблица 1

Жизнеспособность бактерий Исаченко и Мережковского в сухих культурах при различных сроках хранения

Хранение в условиях вакуума			Хранение в условиях сухого воздуха без вакуума		
культура	срок хранения в мес.	количество живых бактерий в %	культура	срок хранения в мес.	количество бактерий в %
Исаченко 13 . .	6	50	Мережковский 5	6	0,008
„ 14 . . .	6	71	Исаченко 7 . . .	6	3
„ 38 . . .	6	92	„ 9 . . .	6	18
„ 2 . . .	6	51	„ 1 . . .	12	0
„ 2_1 . .	6	46	„ 12 . . .	12	0
„ 7 . . .	12	76	„ 24 . . .	9	0
Мережковский 4	6	58			
„ „ 5	24	70			
Исаченко 8	8 лет	сохранились десятки тысяч клеток			

Что касается культур, хранившихся без вакуума, в условиях сухого воздуха (в эксикаторе), то уже через три-шесть месяцев после высушивания бактерии в них, как правило, погибали полностью, и культуры становились стерильными. Воздушно-сухое хранение (без эксикатора) при 10—14% влажности также неблагоприятно отражается на жизнеспособности наших бактерий. Влажность и кислород воздуха оказывают вредное действие как на органические вещества, содержащиеся в сухом обрате, так и на клетки, находящиеся в анабиотическом состоянии. Аврех и другие [11] при проверке сухого бактериофага констатировали падение титра и активности при воздушно-сухом хранении и высказали предположение, что коллоиды, находясь в воздушно-сухом состоянии (11—12% влажности), стареют быстрее, чем в жидкой среде.

Патогенность сухих культур испытывалась нами заражением серых крыс культурой Исаченко, а домовых и белых мышей, а также полевок — культурой Мережковского. Было установлено, что смертельной дозой для одной крысы являлся 1 г сухой культуры, для мыши — 0,1 г. Сухая культура, как в виде порошка, так и в виде суточной отвивки на бульонной среде, скармливалась грызунам в смеси с приманочными веществами, причем оказалось, что в отношении патогенности оба варианта одинаково эффективны. Результаты заражения грызунов бактериями Исаченко представлены в табл. 2, бактериями Мережковского — в табл. 3.

Первые опыты высушивания бактерий Исаченко и Мережковского путем вымораживания были произведены нами в 1941 г. Спустя 8 лет в пробе Данич 8 сохранилось некоторое количество бактерий, оказавшихся при проверке на грызунах весьма патогенными. Проверка патогенности сухой культуры на грызунах показала, что процент смертности подопытных животных (60—100) тот же, что и при заражении контрольных животных исходным штаммом, т. е., что сухая культура сохраняет патогенность исходного материала.

Патогенность сухих культур проверялась нами не только в лабораторных условиях, но и в условиях городского и сельского хозяйства (амбары, хлевы, парники, фабрики и т. д.). В последнем случае мы поступали следующим образом: взяв 1 г концентрированной сухой культуры (предварительно оттитрованной), мы разводили в 0,5 л воды. Полученная взвесь содержала 500 млн. клеток в 1 мл, т. е. не отличалась

Таблица 2

Патогенность сухой культуры бактерий Исаченко

Культура	Срок хранения	В каком виде дана культура	Вид животного	Общее количество животных в опыте	Смертность	
					в %	на какие сутки в среднем
Исаченко 3	1 сутки	Порошка	Крыса серая	5	100	11
То же	45 суток	„	То же	20	60—100	7
„	45 „	Суточной бульонной	„	10	60—80	7
„	3 мес.	Порошка	„	10	80—100	8
„	3 „	„	Полевка обыкновенная	15	80	11
„	6 „	Суточной бульонной	Крыса серая	18	75—100	8
„	6 „	Порошка	То же	15	80—100	10
„	9 „	„	„	15	60—100	13
„	12 „	Суточной бульонной	„	14	80—100	11
Исаченко 14	14 „	То же	Полевка обыкновенная .	5	80	3
„ 7	7 лет	„	Крыса серая	5	100	7
„ 7	7 „	„	Мыши домовые	10	100	10
„ 8	8 „	„	Крыса серая	19	80—100	6
	8 „	„	Полевки и мыши	49	100	6
Контроль	Лабораторный штамм	„	То же	37	60—100	4—15

Таблица 3

Патогенность сухих культур бактерий Мережковского

Культура	Срок хранения	В каком виде дана культура	Вид животноso	Общее количество животных в опыте	Смертность	
					в %	на какие сутки в среднем
Мережковский 4	5 суток	Порошка	Полевки	22	90—100	9
То же	45 „	„	„	21	75—85	12
„	45 „	Суточной бульонной	„	6	83	11
„	3 мес.	Порошка	Полевки и мыши	20	100	15
„	6 „	„	Полевки	33	93—100	11
Мережковский 21	12 „	„	„	3	100	10
„ 21	12 „	Суточной бульонной	„	13	80—100	9
Мережковский 5	22 „	То же	Мышь домовая	9	90	12
Контроль	Лабораторный штамм	„	То же	24	80—100	5—17

по титру от нормальной суточной жидкой культуры; в качестве приманки использовалась ржаная мука. Мы пробовали также отвивать сухие культуры в жидкие питательные среды — бульон и молоко. После суточного роста на культуре по обычному рецепту замешивалась приманка. В этих вынесенных за пределы лаборатории опытах мы применяли су-

хие культуры шестимесячного срока хранения; в одном случае мы использовали культуру восьмилетнего срока хранения, отвив ее предварительно на питательную жидкую среду.

Выводы

1. Принципиально установлена возможность получения и сохранения в течение многих лет культур бактерий Исаченко и Мережковского, высушенных в вакууме в замороженном состоянии (лиофилизация).
2. Высушивание при замораживании может иметь практическое значение для заготовки рассылаемых штаммов и для поддержания в течение многих лет в состоянии анабиоза лабораторных и музейных культур.
3. При хранении в течение года в условиях вакуума и комнатной температуры сухих культур бактерий Исаченко и Мережковского жизнеспособные клетки сохраняются в количестве, достаточном для использования препаратов в дератизационной практике.
4. Хранение сухих культур бактерий Исаченко и Мережковского без вакуума ведет к их отмиранию через три-шесть месяцев.
5. Патогенность сухих культур, хранящихся в течение года в условиях вакуума и комнатной температуры, может быть приравнена к патогенности жидких культур.
6. Суточные культуры, отвитые из сухих культур восьмилетней давности, не уступают по патогенности обычным жидким культурам.
7. Проверка эффективности сухих культур в хозяйственных условиях дала положительные результаты.

Всесоюзный научно-исследовательский
институт сельскохозяйственной микробиологии
Ленинград

Получено 4.XI.1950 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аврех В. В., Калугина А. Н. и др. Сравнительная оценка качеств сухого и жидкого дезинтерийных фагов в лабораторных условиях. Журн. микроб., эпидем. и иммун. № 10, 1946.
2. Беляев А. А. Термоустойчивая осповакцина. Журнал микроб. эпидем. и иммун., № 4, 1941.
3. Гамова-Каюкова Н. И. Метод получения сухих культур молочнокислых бактерий с применением «ростовых веществ» и сушки в вакууме при низких температурах. Микробиология, XVII, вып. 1, 1948.
4. Голубева М. П. Усиление вирулентности бацилл Данича и бацилл Мережковского для серых крыс при помощи замораживания. Тр. Всес. ин-та. с.-х микробиологии, VIII, вып. 1, 1936.
5. Каптерев П. Н. Об анабиозе в условиях вечной мерзлоты. Изв. АН СССР, серия биол., № 6, 1936.
6. Лазарев Н. и Береснева В. Криотермическая стерилизация. Тр. Всес. ин-та с.-х. микробиологии, VI. вып. 1, 1935.
7. Омелянский В. Л. Бактериологическое исследование Санга-Юрахского мамонта и прилегающей почвы. Арх. биол. наук, XVI, вып. 4, стр. 335, 1911.
8. Омелянский В. Л. Устойчивость культур Azotobacter chroococcum к высыханию, Тр. отдела с.-х. микробиологии, I, Л.-М., 1926.
9. Прохоров М. И. Роль русских ученых в открытии и разработке бактериологического метода борьбы с вредными грызунами.
10. Речменский С. С. Лиофилизация как метод консервирования биопрепаратов.
11. Титов Н. Н. Технология сухих биопрепаратов. Сельхозгиз, 1945.
12. Шмидт П. Ю. Анабиоз, Изд-во АН СССР, М.—Л., 1948.
13. Flosdorf E. W. and Madd S. An improved procedure and apparatus for preservation of sera, microorganisms and other substances — the cryochem-process. J. Immunology, **34**, 469, 1938.

АНТАГОНИЗМ ПОЧВЕННЫХ ГРИБОВ ИЗ РОДА PENICILLIUM ПО ОТНОШЕНИЮ К ФИТОПАТОГЕННЫМ БАКТЕРИЯМ

А. П. Ордин

Причины гибели бактерий в почве довольно разнообразны. Сюда относятся конкурентные взаимоотношения с почвенными микроорганизмами, поглотительная способность почвенных частиц (антимикробные свойства почвы), pH среды, температура, влажность и т. д. Но тот факт, что многие бактерии неопределенно долго сохраняются в стерильной почве и вместе с тем быстро исчезают в нестерильной, заставляет думать, что основным фактором подавления фитопатогенных бактерий в почве является присутствие в ней почвенной микрофлоры, оказывающей на них губительное действие. Этими биологическими факторами, вызывающими гибель фитопатогенных бактерий в почве, являются почвенные бактерии, почвенные грибы и простейшие.

В литературе имеются некоторые данные относительно антагонистического действия почвенных бактерий (Солнцева [5]; Хетагурова [6]; Hino [7]), актиномицетов (Красильников [3]: Нахимовская [4]), почвенных простейших (Hino [7]) по отношению к фитопатогенным бактериям.

Что касается антагонизма почвенных грибов по отношению к фитопатогенным бактериям, то по этому вопросу имеются совершенно незначительные данные. В связи с этим перед нами стояла задача установить, имеются ли среди почвенных грибов из родов Aspergillus и Penicillium, отличающихся, как известно, наибольшей активностью по отношению к бактериям — возбудителям заболеваний человека и животных, виды, обладающие антагонистическим действием по отношению к фитопатогенным бактериям, а также выяснить, может ли антагонистическое действие почвенных грибов являться одним из факторов, вызывающих гибель фитопатогенных бактерий в почве.

Экспериментальная часть

Материал и методика

Для изучения антагонистических взаимоотношений между аспергиллами, пенициллами и фитопатогенными бактериями в качестве тест-объектов были взяты три фитопатогенные бактерии: Bact. aroideae Tows., Bact. carotovorum (Jones) Burgw., Bact. vesicatorium Doidg. Первые две бактерии — полусапрофиты, возбудители мягких гнилей, относящиеся к числу многоядных видов. Bact. vesicatorium — возбудитель черной пятнистости томатов является высокоспециализированным паразитом и относится к числу монофагов.

Выделение грибов производилось из почв Московской области четырех экологических стаций: парниковой почвы, почвы лиственного леса, хвойного леса и целины. Почвенные пробы брались в пределах глубины пахотного слоя с трех горизонтов: от 0 до 5 см, от 5 до 10 см и от 10 до 25 см. Выделение грибов производилось методом разведения на среде Чапека. Из каждого горизонта почва высевалась в девяти повторностях.

Поскольку фитопатогенные бактерии хорошо развивались на среде Чапека, для установления антибиотических свойств выделенных штаммов был применен метод подсева бактерий к грибу на поверхности

Рис. 1. Антагонист (P. spinulosum)

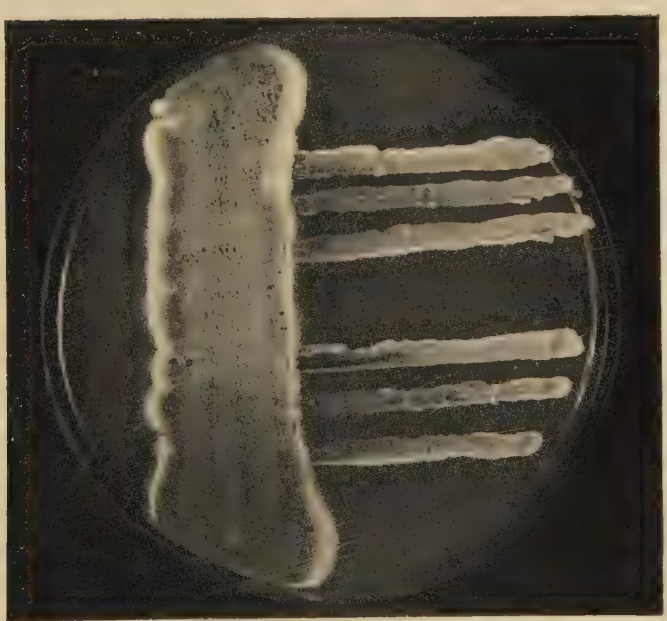


Рис. 2. Неантагонист (P. lanosum). Верхние три штриха — Bact. aroideae. Нижние — Bact. carotovorum

агаризированной среды Чапека в чашках Петри (метод «штриха»). По наличию «стерильных зон» отбирались штаммы, обладающие антибиотическим действием (рис. 1 и 2). Для качественного установления активности выделенных штаммов-антагонистов производилось измерение величины «стерильных зон» в миллиметрах.

Испытание активности выделенных штаммов на разных средах показало, что лучше всего образование антибиотических веществ происходит на среде Чапека. Например Penicillium spinulosum Thom., дающий на среде Чапека «стерильную зону» 25 мм (для всех трех бактерий), совершенно не образует «стерильных зон» на картофельном агаре.

Для определения характера действия выделяемых антибиотических веществ был использован метод отсева со «стерильных зон» в пробирки с мясо-пептонным бульоном. Пробирки выдерживались в течение четырех суток в термостате при температуре 25°. Помутнение бульона указывало на бактериостатический характер действия антагонистов, отсутствие помутнения — на бактерицидный.

Для того чтобы установить, проявляется или нет антибиотическое действие пенициллов-антагонистов на фитопатогенных бактерий в почве, нами было поставлено несколько опытов по внесению Bact. aroideae и грибов-антагонистов в стерильную и нестерильную почву. Для этой цели были использованы: P. capsulatum Rap. и Fen., P. spinulosum Thom., P. rubens Biour., P. lanosum Westl.

P. capsulatum Rap. и Fen. обладает бактерицидным действием и образует «стерильную зону» 25 мм; выделен из парниковой почвы. P. spinulosum Thom. обладает бактерицидным действием и образует «стерильную зону» 25 мм; выделен из почвы лиственного леса. P. rubens Biour. обладает бактериостатическим действием и образует «стерильную зону» 25 мм; выделен из парниковой почвы. P. lanosum Westl. был взят для контроля как неантагонист; выделен из парниковой почвы.

Для опытов была взята парниковая почва, которая помещалась в пробирки (по 10 г в каждую). Часть пробирок с почвой была подвергнута стерилизации. Для стерильной почвы использовались все четыре штамма, отобранные для работы. Для нестерильной почвы — два штамма (P. rubens и P. spinulosum). Общее количество вносимой в почву суспензии спор грибов и бактериальной суспензии составляло 3 мл на 10 г. Это количество воды позволяло довести содержание влаги в почве до 60% от ее полной влагоемкости. Бактерия вносилась в почву из расчета 500 млн. бактериальных тел на 1 г почвы, гриб — в количестве 4 млн. спор на 1 г почвы. Для каждого штамма опыт в стерильной и нестерильной почве ставился в двух вариантах:

1) антагонист вносился одновременно с бактерией;

2) бактерия вносилась через 10 дней после внесения антагониста.

Для контроля бактерия вносилась одна.

Неантагонист вносился только во втором варианте.

Периодически производилось вычисление процента влажности. Недостающее количество воды до 60% от полной влагоемкости доливалось стерильной водой.

Количество бактерий на 1 г стерильной почвы каждого варианта учитывалось путем периодических высевов 0,1 мл почвенной болтушки различных разведений в чашки Петри с картофельным агаром. Подсчет количества колоний производился на вторые сутки на основе последнего разведения, обнаруживающего наличие бактерий. Наличие бактерий в нестерильной почве устанавливалось путем заражения клубней картофеля. Для этой цели клубень (при соблюдении стерильности) разрезался на две части. С внутренней стороны одной из половинок делалось углубление, в которое накладывалась почва. Затем половинки клубня накладывались одна на другую и в таком виде разрезанные клубни помещались под стеклянный колпак, обернутый изнутри влаж-

ной фильтровальной бумагой. Для контроля часть клубней наполнялась нестерильной почвой. Опыты проводились в оптимальных температурных условиях (22—25°) в течение двух-четырех дней. Заражение клубней говорило о наличии бактерий в почве. Метод заражения клубней почвой был также использован и для стерильной почвы. В последнем случае этот метод в совокупности с количественным учетом давал возможность судить о том, изменяются или нет патогенные свойства бактерий в стерильной почве, а также установить зависимость между количественным содержанием бактерий в почве и проявлением инфекции.

Видовой состав выделенных антагонистов из родов Aspergillus и Penicillium, их распространение в различных почвах и характер действия

Из числа представителей родов Aspergillus и Penicillium нами было выделено из всех почв 694 штамма. Из них 666 штаммов пенициллов и только 28 штаммов аспергиллов. Испытание активности выделенных штаммов показало, что из них 176 штаммов обладают антибиотическими свойствами по отношению к Bact. aroideae и Bact. carotovorum, что составляет свыше 25% от общего числа выделенных штаммов. Подавляющее количество антагонистов относится к пенициллам (175 штаммов) и только один штамм является аспергиллом. Наибольший процент пенициллы-антагонисты для Bact. aroideae и Bact. carotovorum составляют в парниковой почве (39,6% от общего количества выделенных из этой почвы штаммов). Несколько меньший процент пенициллов-антагонистов установлен для почв лиственного леса и хвойного леса (соответственно 36,2 и 34,2). Особенно мало содержится их в целинной почве (7,2%). Что касается распределения штаммов и видов антагонистов по разным горизонтам почвы, то особой закономерности наблюдать не удалось.

Определение систематического положения выделенных штаммов-антагонистов позволило установить, что они входят в состав 15 видов (табл. 1). Один вид (Aspergillus niger v. Tiegh.), представленный одним штаммом, относится к роду Aspergillus. Остальные 14 видов входят в состав рода Penicillium. Наибольший процент штаммов-антагонистов дают виды P. Namylowski Zal. (40,9%), P. porraceum Biour. (15,9) и P. rubens Biour. (15,5). Следует отметить, что целинная почва характеризуется не только низким процентом штаммов-антагонистов, но и бедным видовым составом антагонистов. В то время как из парниковой почвы, почвы лиственного леса и почвы хвойного леса нами выделено соответственно по 8, 7 и 9 видов, из целинной почвы выделено только 4 вида. Некоторые виды являются общими для всех четырех типов почв (например P. Namylowski и P. porraceum).

Как правило, штаммы, являющиеся антагонистами для Bact. aroideae, одновременно являются антагонистами и для Bact. carotovorum. Все штаммы-антагонисты для Bact. vesicatorium обязательно входят в число антагонистов для Bact. aroideae и Bact. carotovorum. Но не все штаммы, являющиеся антагонистами для первых двух бактерий, являются антагонистами для Bact. vesicatorium. Сходство между Bact. aroideae и Bact. carotovorum выражается не только в составе антагонистов, но и в степени активности антагонистов по отношению к ним. Величина зон подавления, образуемая одим и тем же штаммом, почти всегда одинакова для обеих бактерий и варьирует от 5 до 40 мм, причем большинство штаммов образует зону подавления до 20 мм.

Изучая характер действия выделенных антагонистов на фитопатогенных бактерий, мы установили, что преобладающее количество анта-

Таблица 1

Видовой состав антагонистов по отношению к Bact. aroideae (Tows.) Bact. carotovorum (Jones) Burgw. и Bact. vesicatorium Doidg. из родов Aspergillus и Penicillium

№ секции	Секция	№ вида	Вид	Количество штаммов	% от общего количества антагонистов	Количество штаммов-антагонистов для		
						B. aroideae	B. carotovorum	B. vesicatorium
1	Aspergillus niger	1	A. niger v. Tiegh.	1	0,56	1	1	—
2	Monoverticillata-stricta	2	P. spinulosum Thom	1	0,56	1	1	1
		3	P. Thomi Maire	1	0,56	1	1	1
3	Monoverticillata-ramigena	4	P. capsulatum Rap. et Fen. . .	1	0,56	1	1	—
4	Asymmetrica	5	P. chloro-leucon Biour.	2	1,14	2	2	1
		6	P. lanosum Westl.	17	9,66	17	17	13
		7	P. Melinii Thom.	2	1,14	2	2	—
		8	P. porraceum Biour.	28	15,91	28	28	16
		9	P. rubens Biour.	27	15,34	27	27	16
		10	P. viridicatum Westl.	12	6,82	12	12	5
5	Biverticillata-symmetrica	11	P. luteo-viride Biour	3	1,7	3	3	3
		12	P. Namylowski Zal.	72	40,91	72	72	22
		13	P. rugulosum Thom.	6	3,41	6	6	6
		14	P. tardum Thom.	2	1,14	2	2	—
		15	P. species	1	0,56	1	1	—
			Всего . . .	176	100	176	176	84

гонистов (80%) оказывает бактериостатическое действие. Почти все штаммы, обладающие бактерицидным действием для Bact. aroideae, оказывают такое же действие на Bact. carotovorum. Штаммы с бактериостатическим действием являются также общими для обеих бактерий. На основании сходства морфологических и физиологических признаков, а также на основании одинакового отношения к действию антагонистов можно предположить, что обе бактерии являются близкими штаммами одного вида.

Отметим другую интересную закономерность: в тех случаях, когда штамм является антагонистом для всех трех бактерий и обладает бактерицидным действием для Bact. aroideae и Bact. carotovorum, он, как правило, обладает бактерицидным действием и для Bact. vesicatorium. Следовательно, наряду с избирательным характером действия антагонистов наблюдается и групповой, выражающийся в одинаковом характере действия антагонистов на всех трех бактерий. Bact. vesicatorium является наиболее устойчивым к действию антибиотических веществ, образуемых пенициллами. Это выражается как в значительно меньшем проценте антагонистов по сравнению с Bact. aroideae и Bact. carotovorum, так и в более слабой активности по отношению к нему.

В результате действия антибиотических веществ на бактериальную клетку можно было наблюдать изменение морфологии бактериальной клетки, что выражалось в увеличении размеров полярных зерен.

Антибиотические вещества, вырабатываемые пенициллами, подавляют главным образом развитие грамположительных бактерий и в

меньшей степени грамотрицательных. В свете этих данных интересно отметить, что полученные нами результаты выражают другую закономерность действия антибиотических веществ, выделяемых представителями рода Penicillium, по отношению к фитопатогенным бактериям. Все три штамма фитопатогенных бактерий, взятые в качестве тест-объектов, являются грамотрицательными, тем не менее антибиотические вещества, выделямые пенициллами, оказывают на них весьма сильное подавляющее действие (особенно по отношению к Bact. aroideae и Bact. carotovorum). Следовательно, реакция по Граму не может являться общим критерием устойчивости бактерий к действию антибиотиков, образуемых пенициллами.

Очевидно, что подавление пенициллами фитопатогенных бактерий не связано с конкурентными взаимоотношениями этих организмов, поскольку фитопатогенные бактерии не являются постоянными обитателями почвы. Предполагают, что угнетение патогенных форм есть своего рода групповая реакция, причем действие антибиотиков распространяется на ряд систематических групп независимо от их патогенности (Имшенецкий [2]).

В силу своего механизма действия приспособление, выработавшееся в результате конкурентных взаимоотношений с почвенными микроорганизмами, может одновременно распространяться на организмы, не являющиеся обитателями почвы.

Влияние грибов-антагонистов из рода Penicillium на выживаемость фитопатогенных бактерий в почве

Для того чтобы ответить на вопрос о возможной роли пенициллов в подавлении фитопатогенных бактерий в почве, нами были поставлены опыты по изучению взаимоотношений этих организмов в естественных условиях.

Опыты, поставленные в двух вариантах (см. выше), показали, что пенициллы-антагонисты проявляют свою активность как в стерильной, так и в нестерильной почве.

В стерильной почве бактерия, внесенная одна или совместно с пенициллом-неантагонистом, оставалась жизнеспособной и не теряла вирулентности (почва сохраняла способность заражать растения в течение 120 дней). Количество бактерий на 1 г почвы оставалось примерно одинаковым. При внесении бактерии совместно с пенициллами-антагонистами она уменьшалась в числе и почва теряла способность заражать растения. Так, при внесении Bact. aroideae одновременно с P. spinulosum количество бактерий за 35 дней уменьшилось с 500 млн. до 15 млн. (т. е. более чем в 30 раз). При внесении бактерии через 10 дней после внесения антагониста она уменьшилась за тот же срок с 500 млн до 2 млн. (в 250 раз). Аналогичные данные были получены для P. capsulatum и P. rubens.

Уменьшение бактерий в числе при одновременном внесении антагониста можно было наблюдать лишь на 20-й день, в то время как при предварительном внесении антагониста — через 10 дней. Штамм, обладающий бактериостатическим действием (P. rubens), ведет себя примерно так же, как и штаммы с бактерицидным действием. Штамм с бактерицидным действием (P. spinulosum), выделенный из почвы лиственного леса, ведет себя в парниковой почве так же, как и соответствующий ему штамм, выделенный из парниковой почвы (P. capsulatum).

Примененный одновременно качественный метод позволил установить, что при наличии 10—15 млн. бактериальных тел на 1 г почвы заражение не происходит и почва практически не представляет опасности, как источник инфекции. В связи с этим следует отметить, что

употребляемое нами выражение «гибель бактерий» следует понимать не как полное уничтожение бактерий в почве, а как численное уменьшение их до такого количества, которое уже не может вызвать заражения растения. Полученные данные полностью согласуются с положением Горленко и Воронкевич [1] о том, что при помощи метода непосредственного выделения фитопатогенных бактерий из почвы с последующим культивированием на искусственной среде и затем испытанием на вирулентность нельзя получить правильное представление о значении почвы как источника инфекции.

При качественном испытании, так же как и при количественном учете, бактерия погибала раньше в варианте с предварительным внесением антагониста.

При внесении Bact. aroideae в нестерильную почву гибель бактерий отмечалась на 30-й день после внесения (табл. 2), в то время как при внесении одновременно с антагонистом (P. spinulosum или P. rubens) почва теряла способность заражать растения уже на 10-й день после внесения. При внесении бактерии через 10 дней после внесения антагониста гибель бактерий отмечалась на 20—25-й день после внесения.

Таблица 2

Влияние антагонистов на выживаемость Bact. aroideae Tows. в нестерильной почве

Вариант опыта	Сроки испытаний после внесения бактерий (в сутках)									
	1	3	5	10	15	20	25	30	35	40
Bact. aroideae	+	+	+	+	+	+	+	—	—	—
P. rubens + B. aroideae (одновременно)	+	+	+	—	—	±	—	—	—	—
P. rubens + B. aroideae (через 10 дней)	+	+	+	+	+	±	—	—	—	—
P. spinulosum + B. aroideae (одновременно)	+	+	+	—	±	—	—	—	—	—
P. spinulosum + B. aroideae (через 10 дней)	+	+	+	+	+	+	±	—	—	—

Примечание. + наличие заражения, — отсутствие заражения.

Результаты, противоположные данным, полученным со стерильной почвой, очевидно, объясняются наличием в почве организмов, в свою очередь ограничивающих развитие предварительно внесенных пенициллов.

На основании наших опытов по изучению влияния пенициллов-антагонистов на выживаемость Bact. aroideae в почве можно придти к заключению, что антагонистическое действие пенициллов по отношению к фитопатогенным бактериям проявляется не только на искусственных средах, но и в естественных условиях, в почве. Следовательно, пенициллы, составляя значительный процент почвенной микрофлоры, являются одной из причин гибели фитопатогенных бактерий в почве.

В заключение считаю своим долгом выразить глубокую благодарность доктору биологических наук проф. М. В. Горленко за ценные указания в процессе работы.

Выводы

1. Как среди пенициллов, так и среди аспергиллов имеются штаммы, обладающие антагонистическим действием по отношению к фитопа-

тогенным бактериям: Bact. aroideae Tows., Bact. carotovorum (Jones) Burgw. и Bact. vesicatorium Doidg. Процент антагонистов из числа пенициллов составляет 26,3 из числа аспергиллов — 3,5. Наибольший процент пенициллы-антагонисты составляют в парниковой почве (39,6% от общего количества выделенных штаммов) и наименьшее количество антагонистов содержится в целинной почве (7,2%).

2. Выделенные штаммы антагонистов входят в состав 15 видов. Один вид относится к роду Aspergillus (A. niger), а остальные — к роду Penicillium. Большая часть видов пенициллов-антагонистов входит в состав секций: Asymmetrica (6 видов) и Biverticillata-symmetrica (5 видов). Наибольшее количество штаммов-антагонистов представлено видами: P. Namylowski Zal. (72 штамма), P. porraceum Biour. (28), P. rubens Biour. (27), что составляет 127 штаммов из 175 выделенных.

3. Все выделенные штаммы-антагонисты являются обязательными антагонистами для Bact. aroideae и Bact. carotovorum, и только 47,7% из них обладают подавляющим действием по отношению к Bact. vesicatorium. Как правило, все штаммы обладают одинаковой активностью по отношению к Bact. aroideae и Bact carotovorum.

4. Подавляющее количество антагонистов обладает бактериостатическим действием (85% для Bact. aroideae и Bact. carotovorum и 74% для Bact. vesicatorium). Антагонисты, общие для всех видов бактерий, почти всегда обладают одинаковым характером действия по отношению к ним.

5. Антибиотические вещества, выделяемые пенициллами, оказывают сильное подавляющее действие на грамотрицательные фитопатогенные бактерии (Bact. aroideae, Bact. carotovorum, Bact. vesicatorium). Следовательно, реакция по Граму не может являться общим критерием устойчивости бактерий к действию антибиотиков, образуемых пенициллами.

6. На основании сходства морфологических и физиологических признаков, одинакового состава антагонистов, а также одинакового отношения к действию антибиотических веществ можно считать, что Bact. aroideae и Bact. carotovorum являются не разными видами, а близкими штаммами одного вида.

7. Пенициллы, проявляющие себя как антагонисты для фитопатогенных бактерий на искусственной среде, проявляют свою активность и при внесении их в стерильную и нестерильную почву. Стерильная почва при внесении в нее Bact. aroideae сохраняла способность заражать растения в течение 120 дней, в то время как при внесении бактерии совместно с антагонистом почва теряла способность заражать растения уже на 30-й день. Bact. aroideae, внесенная одна в нестерильную почву, гибнет на 30-й день; внесенная одновременно с антагонистом — на 10-й день.

8. При наличии в почве около 10—15 млн. бактериальных тел на 1 г почвы заражение клубней картофеля Bact. aroideae не происходит.

9. Антагонистическое действие пенициллов, составляющих значительный процент почвенной микрофлоры, является одной из причин, вызывающих гибель фитопатогенных бактерий в почве.

Московская станция Всесоюзного института защиты растений

Получено 26.VIII.1950 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Горленко М. В. и Воронкевич И. В. Выживаемость в почве двух групп фитопатогенных бактерий. Бюлл. Моск. об-ва испыт. природы, отд. биол., т. LIV (2), 1949.
2. Имшенецкий А. А. Открытие антибиотиков и задачи общей микробиологии. Бюлл. эксп. биол. мед., XXIII, вып. 5, 1947.

3. Красильников Н. А., Мирзабекян Р. О. и Аскарова С. Применение антибиотиков при некоторых заболеваниях у растений. ДАН СССР, LXXIX, № 6, 1951.
4. Нахимовская М. И. Антагонизм между актиномицетами и почвенными бактериями. Микробиология, VI, вып. 2, 1937.
5. Солнцева Л. И. О лизисе фитопатогенных бактерий, вызываемом Myxobacteriales. Микробиология, VIII, вып. 6, 1939.
6. Хетагурова Ф. В. и Олицкая А. В. К вопросу об антагонизме у бактерий. Изв. высших курсов прикладн. зоологии и фитопатологии, вып. XII, 1941.
7. Hino J. Antagonistic action of soil microbes with special reference to plant hygiene. Trans. Third. Congr. Soil Sci., I, 1935.

ПОЛУЧЕНИЕ ВЫСОКОАКТИВНЫХ АНТИГРИБНЫХ СЫВОРОТОК

А. Н. Мамонтова

Получение высокоактивных антигрибных сывороток к паразитным грибам является сложным вопросом не только в растениеводстве, но и в медицине, где серологический метод широко применяется и является наиболее разработанным.

Недостаточно высокая активность (титр и авидитет) антигрибных сывороток затрудняет постановку работ по иммунологической характеристике их. Реакция протекает очень длительно, положительный эффект наблюдается только на вторые, а нередко и на третьи сутки. Кроме того, интенсивность реакции при работе с некоторыми грибами значительно ниже, чем при постановке работ с бактериями.

Нас заинтересовал вопрос о значении количественных соотношений антигена как при постановке реакции, так и при иммунизации животного.

Имеются многочисленные литературные данные по вопросу о влиянии концентрации антигена при постановке реакций в растительной серологии, особенно при работе с вирусными заболеваниями.

В частности, было установлено, что интенсивность реакции строго согласуется с инфекционностью вирусного антигена.

Опыт с Ustilago tritici и Sclerotinia libertiana, проведенный нами в 1945 г., также показал, что интенсивность реакции зависит от концентрации антигена (табл. 1 и 2).

Таблица 1

Влияние концентрации антигена на интенсивность реакции с Ustilago tritici

Антисыворотка	Антиген — солевая вытяжка из спор					
	процент (по весу) спор гриба, взятых для приготовления антигена					
Специфичная	10	5	2,5	1	0,5	0,25
Ustilago tritici W.	2+	+	±	—	—	—

Примечание к табл. 1—4. Реакции ставились по типу кольцепреципитации 4+ наивысшая реакция; 2+ средняя реакция; + слабая реакция; ± еле заметная реакция; — отсутствие реакции.

Таким образом, можно сделать вывод: чем выше концентрация антигена, тем реакция более интенсивна.

Среди серологических работ с растительными объектами по вопросу о зависимости активности сывороток от концентрации антигена, употребляемого для иммунизации животного, известны работы, касающие-

Таблица 2

Влияние концентрации антигена на интенсивность реакций с Sclerotinia libertiana

Антисыворотка специфичная Sclerotinia libertiana	Антиген Sclerotinia libertiana					
	солевая вытяжка	процент грибницы гриба (по весу), взятой для приготовления антигена				
		3	1,5	0,75	0,5	0,25
Получена к склероциям	Из склероциев	4+	4+	3+	+	±
Получена к грибнице	» грибницы	2+	1—2+	+	±	±

ся вирусных заболеваний. Например, Честер (Chester [11]), Клецковский и Ватсон (Kleczkowski and Watson [13]) отмечают, что с увеличением концентрации вируса в соке растения, взятого для иммунизации животного, увеличивается титр получаемых сывороток.

В отношении фитопатогенных бактерий Манфановская [5] получала при иммунизации более высокими дозами микробных тел и более высокие титры сывороток.

О преимуществе иммунизации живой культурой указывается Одюруа, который считает, что убитый вирус обладает лишь антигенным свойством, а живой вирус, кроме того, обладает иммунизирующим свойством. При иммунизации животного гретой культурой фактически мы имеем меньшую концентрацию исходного антигена, так как часть его при нагревании меняет свое качество. При иммунизации, если такой антиген и участвует в образовании антител, то эти антитела обладают отличной специфичностью от исходного антигена, за счет чего на наш взгляд и идет снижение титра сывороток при иммунизации животных убитой культурой.

Греннаус и Гусева [2] также отмечают, что иммунизация животного живой культурой брюшного тифа дает более высокие титры сывороток, чем иммунизация гретой и формалинизированной культурой.

Матвеев [6] путем увеличения доз микробных тел возбудителя газовой гангрены при иммунизации животных с 4—12 млрд до 44—98 млрд. микробных тел добился очень значительного ускорения хода реакций. Реакция появлялась через 1—2 минуты, редко через 5 минут.

Но не все исследователи уделяют должное внимание значению количества антигена, вводимого при иммунизации.

В отношении антигрибных сывороток нам не встречалось прямых указаний на зависимость их активности от количества введенного антигена.

В своих исследованиях мы пытались выяснить значение количества антигена, вводимого в животное, при получении антигрибных сывороток. Иммунизация животных производилась путем внутривенного введения суспензий спор Ustilago tritici W. Споры предварительно растирались.

Было установлено, что с увеличением количества спор пыльной головни пшеницы, введенных в животных, увеличивается сила получаемой сыворотки (табл. 3).

Длительный перерыв между двумя циклами инъекций при иммунизации животного привел к снижению силы сыворотки. Так, при введении 0,09 г спор без длительного перерыва (табл. 3) интенсивность реакции была выше (4+), чем при дозе в 0,095 г, введенной в два цикла с 10-дневным перерывом между циклами (2—3+).

Таблица 3

Влияние концентрации антигена Ustilago tritici W., взятого при иммунизации животного, на интенсивность реакций

Антиген	Количество спор гриба в г, введенное в животное при получении антисыворотки					
	0	0,005	0,045	0,055	0,090	0,095
	неиммунизированное животное	проросшими спорами	без предварительного обезжиривания	с предварительным обезжириванием	с предварительным обезжириванием: иммунизация в один цикл без длительного перерыва	с предварительным обезжириванием: иммунизация в два цикла с десятидневным перерывом между циклами
Раствор глобулина Ustilago tritici W. в 0,5% концентрации	—	+	±	2+	4+	2—3+

Сыворотка, полученная при иммунизации животного массой растертых спор головни, предварительно обезжиренной серным эфиром, обладала большей силой, чем сыворотка, полученная при иммунизации необезжиренной массой растертых спор.

Известно, что обезжиривание способствует лучшему экстрагированию белков, а так как в иммунологических реакциях белки играют в большинстве случаев основную роль, то более легкое поступление их в кровь животного в случае иммунизации обезжиренными спорами и привело к получению сыворотки, обладающей большей силой.

Это навело нас на мысль — установить зависимость активности сыворотки от количества белка в антигене. Сравнивая активность антибактериальных и антигрибных сывороток, мы сопоставили их и в отношении содержания белков. При почти равном проценте общего азота в клетках бактерий и грибов они чрезвычайно резко отличаются по количеству белкового азота.

Белозерский [1] указывает, что «едва ли возможно найти другие организмы в растительном царстве, которые в своих клетках содержали бы такое же количество белков и нуклеиновых кислот, как бактерии». Этим автором составлена таблица, показывающая содержание белков (в процентах к сухому весу) в бактериях, грибах, в воспроизводящих клетках и эмбриональных тканях некоторых высших растений. Содержание белков в грибах составляет от $^1/_4$ до $^1/_3$ части сухого веса их, тогда как в бактериях белок составляет больше половины их веса (50—70%).

Но в серологических реакциях основную роль в образовании антител играет легкорастворимая часть белка (альбумины и глобулины) (Федотова [9]).

Белок бактерий почти полностью состоит из легкорастворимых форм. Так, Белозерский [1] сообщает, что гнилостные бактерии содержат 84—86% альбумината, тогда как в зерне пшеницы, например, по данным Иванова [3], из общего количества белка в 14—16% на долю альбуминов и глобулинов приходится всего лишь 1,1—1,2%.

Нами был поставлен опыт по определению количества белков, растворимых в 10%-ном растворе NaCl в азотфиксирующих бактериях и в спорах твердой головни пшеницы.

По литературным данным нам известно, что титры антисывороток, полученных к этим двум объектам, сильно отличаются. Климмер и Крюгер (Klimmer und Krüger [14]) и Ципфель (Zipfel [12]) при иммунизации азотфиксирующими бактериями получали антисыворотки с титром от 1 : 1000 до 1 : 10 000. Бек (Beck [10]) при работе с головневыми грибами различных культур, иммунизируя животных вытяжкой из грибницы и самой грибницей Ustilago tritici, получал сыворотки с титром 1 : 40.

Содержание глобулинов в данных объектах, как показал наш опыт, количественно сильно различается. Так, из спор Ustilago tritici мы извлекли глобулинов 0,44%, а из азотобактера — 6,0%. Цифры приведены в процентах к воздушно-сухому весу каждого исследуемого объекта.

Следовательно, наш опыт показывает, что содержание глобулинов во взятых нами бактериях в 13,5 раз больше, чем в спорах головни.

Различие в содержании легкорастворимой формы белков и обуславливает, на наш взгляд, различие в активности получаемых сывороток при иммунизации грибами и бактериями.

Доказательством, что основную роль при иммунизации играет растворимая форма белков, является то, что сыворотка, полученная при иммунизации значительно меньшим количеством спор, предварительно пророщенных, обладала значительно большей силой (табл. 3).

Согласно данным Иванова [4] (по семенам ячменя), в период прорастания в живых клетках происходит перевод сложных белков в простые. Это же, повидимому, происходит и в прорастающих спорах, что сказывается на активности полученной антисыворотки (табл. 3).

Произведенная нами иммунизация животных белками, полученными из спор гриба, показала большое повышение активности антигрибной сыворотки, а также и очень значительное ускорение течения реакций.

При постановке реакций на определение устойчивости сортов пшеницы к пыльной и твердой головне методом Федотовой [8, 9] при помощи антипаразитной сыворотки нами установлена значительная разница между сыворотками, полученными к спорам данных паразитов, и к белкам, извлеченным из спор.

Так, если сыворотка, полученная иммунизацией животного 0,09 г спор пыльной и твердой головни пшеницы, обнаруживает положительную реакцию с белком восприимчивого сорта при 5—10%-ной концентрации последнего, то сыворотка, полученная при иммунизации животного 0,09 г белка спор тех же грибов, реагировала положительно с антигеном восприимчивого сорта в концентрации 0,02%.

Выводы

1. В результате проведенных опытов установлено, что в получении высокоактивных антигрибных сывороток при одном и том же способе иммунизации основную роль играет количество белка (глобулина), введенного при иммунизации животного.

2. Низкая активность антигрибных сывороток объясняется незначительным содержанием легкорастворимых форм белка в грибах.

3. Иммунизация животных при получении антигрибных сывороток белками грибов повышает активность этих сывороток, что позволит более широко развернуть работу по постановке иммунологических работ с грибными паразитами, в том числе и при вакцинолечении.

Такие высокоактивные сыворотки дают положительную реакцию в течение 1—15 минут, и в продолжение одного часа реакция достигает максимальной интенсивности.

Всесоюзный научно-исследовательский
институт защиты растений
Ленинград

Получено 25.VII.1950 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Белозерский А. Н. О количественном содержании белков и нуклеиновых кислот в бактериальной клетке. Микробиология, IX, 107, 1940.
2. Греннаус Г. И. и Гусева Т. К. Опыт изучения эффективности однократных прививок против брюшного тифа. Журн. микроб., эпид. и иммун., № 12, 1940.
3. Иванов Н. Н. Биохимия культурных растений, т. 1, Сельхозгиз. 1936.
4. Иванов Н. Н. Проблема белка в растениеводстве. Сельхозгиз, 1947.
5. Манфановская З. Н. Опыт получений агглютинирующих сывороток для фитопатогенных бактерий. Изв. Ростовской станции защиты растений, № 9, 1938.
6. Матвеев К. И. Быстрая диагностика газовой гангрены методом кольцепреципитации. Сообщ. 1. Приготовление специфических преципитирующих сывороток. Журн. микроб., эпид. и иммун., № 10—11, 1941.
7. Одюруа П. Ультравирусы болезнетворные и сапрофитные. Гос. изд-во, 1936.
8. Федотова Т. И. Серологический метод определения сортоустойчивости хлопчатника к заболеваниям. Защита растений, № 5, 11, 1935.
9. Федотова Т. И. Оценка сортов на устойчивость к заболеваниям по семенам лабораторным методом (серологическим). Сб. Тр. Всесоюзного института защиты растений, вып. 1, 1948.
10. Beck E. C. The application of serological methods to the differention of closely related smut fungi. Canad. J. Res., **16**, No. 10, 1938.
11. Chester K. S. A critique of plant serology. Part I. The nature and utilization of phytoserological procedures. Quarterly review of biology, 12 (1), March, 1937.
12. Zipfel H. Beitrage zur Morphologie und Biologie der Knöllchenbakterien der Leguminosen. Ztbl. Bakt. II Abt., **32**, 97, 1912.
13. Kleczkowski A. and Watson M. A. Serological studies on sugar-beet yellows virus. Ann. Appl. Biol., **31**, No. 2, 1944.
14. Klimmer M. und Krüger R. Sind die bei den verschiedenen Leguminosen gefundenen Knöllchenbakterien artverschieden? Ztbl, Bakt. II Abt., **40**, 256, 1914.

ЭТИОЛОГИЯ ЧЕРНОГО БАКТЕРИОЗА ПШЕНИЦЫ

У. Г. Оксентьян

Как указывал Ячевский [16] еще в 1893 г., а позже в 1911 и 1913 гг., были замечены черные колосья у пшеницы, но причины этого почернения не исследовались.

В 1917—1918 гг. Смис (Smith [20, 21, 22]) в Америке изучал причины почернения верхних частей чешуек колоса пшеницы. Эти почернения, по его данным, были связаны со щуплостью зерна и, следовательно, были вредоносны. Им выявлен возбудитель этого заболевания Xanthomonas translucens var. undulosum, идентичный по всем своим свойствам, кроме патогенных, с Xanthomonas translucens — возбудителем бактериоза ячменя, описанным ранее Джоном, Джонсоном и Редии (Jones, Johnson a. Reddy [19]). Заболевание было названо «блэкчафф» (черная солома).

В 1926 г. Максимчук [11] наблюдал почернение колосьев озимых пшениц на Ивановской селекционной станции и считал его результатом засухи, ввиду того, что оно не передавалось новому урожаю и не уменьшало размеров урожая.

Фомин [15] в 1928 г., Присяжнюк [14] в 1929 г. изучали это явление на озимых пшеницах и установили его вредоносность, указав, что это — бактериоз.

В 1935—1936 гг. Горленко [3, 4, 5] отметил почернение колоса яровых пшениц и установил большую степень вредоносности.

Почернение колоса пшениц отмечалось на различных сортах озимых и яровых пшениц, при этом одни авторы могли установить связь почернения со снижением урожая от щуплости зерна (Фомин [15], Горленко [4]), другие такой связи не находили (Максимчук [11]).

Работы этого периода основаны на учете черного бактериоза только по внешним признакам без детальных бактериологических исследований. По аналогии с описанным Смисом бактериозом исследователи относили пшеницы с черным колосом к группе поражаемых бактериозом, и только некоторые авторы делали бактериологический анализ. Они удовлетворялись тем, что из почерневших чешуек колоса и щуплых зерен выделяли культуру желтопигментной бактерии, сходной по внешнему виду с описанной Смисом (Фомин [15]; Присяжнюк [14]).

Израильский и Козакова [10] выделили из почерневших чешуек и зерен культуру желтопигментных бактерий и отнесли ее к разновидности Xanthomonas translucens.

Однако детального изучения морфолого-культуральных и биохимических свойств этих культур авторами не проводилось, а также не проверялось важнейшее, решающее свойство возбудителя — вызывать при искусственном заражении типичные признаки заболевания или гибель растения. Только в работе Викторовой [2], изучавшей бактериоз пшениц в Ростовской области, указывается на положительные результаты при искусственном заражении чистыми культурами Xanthomonas translucens var. undulosum молодых проростков пшеницы в лабораторных условиях. Однако описания свойств этого возбудителя, кроме его отношения к углеводам, в этой работе также не приводится. Таким образом, судя по литературным данным, ни один из исследователей не обнаружил культур, строго идентифицированных как Xanthomonas translu-

cens var. undulosum. Ввиду неясности этиологии черного бактериоза в Институте сельскохозяйственной микробиологии проводилось изучение бактериозов пшениц в течение 1938—1940 гг. и 1946—1947 гг.

Прежде всего в течение двух лет было проведено обследование посевов пшениц в основных зерновых районах СССР путем выезда на поля, а также получен материал от агрономов-апробаторов, от районных и участковых агрономов. Учет заболеваний проводился сравнением наличия внешних признаков с данными бактериологических анализов.

В результате такого изучения оказалось, что, несмотря на большой исследованный материал с типичными внешними признаками (т. е. почернением верхних частей чешуек колоса), из различных областей и районов и на большом числе озимых и яровых сортов ни в одном случае не были обнаружены патогенные культуры Xanthomonas translucens var. undulosum. Желтопигментные культуры, сходные по описанию с культурой Смиса, выделялись в небольшом числе случаев (около 20%). В основном на почерневших чешуйках и зернах преобладала группа эпифитных желтопигментных бактерий типа Bacterium herbicola aureum. В отдельных образцах присутствовал возбудитель «гнили основания чешуек» — Pseudomonas atrofaciens [12, 13]. Большое число опытов по испытанию патогенности всех желтопигментных культур, как в лабораторных условиях на проростках, так и в оранжерее и в полевых условиях на взрослых растениях, в различные фазы развития растения, проводившихся в течение нескольких лет различными методами искусственного заражения, неизменно показывали, что среди этих бактерий отсутствуют патогенные для пшеницы. Почернение колоса не всегда было связано со щуплостью зерна. Часто колосья с типичным для «черного бактериоза» почернением верхних частей чешуек не имели щуплых зерен. Из щуплых зерен также не удавалось изолировать возбудителя. Растения, выращенные из щуплых зерен и зерен из черного колоса, не имели признаков заболевания на листьях и чешуйках. Заражение почвы и семян чистыми культурами этих бактерий также не вызывало почернений колоса и гибели растений.

Все эти наблюдения и опыты позволили сделать вывод, что Xanthomonas translucens var. undulosum на пшеницах в СССР отсутствует и что заболевания блэк-чафф, вызываемого этой культурой, у нас не обнаружено.

В 1938—1939 гг. появляется ряд новых работ (Горленко, Беленький и др. [1, 6, 7, 8, 9]), в которых приводятся данные по вредоносности почернения колоса, методы диагностики возбудителя и меры борьбы с этим поражением. Авторы устанавливали, что в основном распространено поражение колоса черным бактериозом, а листовая и стеблевая форма встречаются редко и только на некоторых сортах. Что касается свойств возбудителя (таковым считается Xanthomonas translucens var. undulosum), то они оказываются очень различными. Все желтопигментные бактерии, патогенные для пшеницы и ячменя, предлагается объединить в сборную группу Xanthomonas translucens. При этом оказываются объединенными культуры с несовпадающими биохимическими свойствами, отобранные по методу капельной агглютинации [1]. Для нас ясно, что авторы не обнаружили специфического возбудителя; некоторые желтопигментные культуры, очевидно, могли давать в каких-то условиях почернение колоса. Следует отметить, что основные опыты по проверке патогенности велись на яровом сорте пшеницы Цезиум 0111, который в естественных условиях, как известно, обычно имеет большой процент пигментированных колосьев. Почернение же колосьев, по указанию авторов, при искусственном заражении проявлялось не всегда и на этом и на других сортах.

Метод капельной агглютинации, примененный указанными авторами для диагностики черного бактериоза, также не является убедитель-

ным, так как при проверке нами этого метода с сывороткой № 70 положительный результат дали культуры Bacterium herbicola.

Таким образом, сыворотка не является специфической и не может служить для целей диагностики.

Можно было допустить, что некоторые желтопигментные бактерии, близкие по свойствам к Xanthomonas translucens, но не относящиеся к этому виду, при определенных условиях могут вызывать поражение растений.

Нами была поставлена задача выяснить причины почернения колоса.

Еще в 1925 г. Ячевский подчеркнул желательность выяснения причины пигментации колоса у каждого нового вида пшеницы с черным пигментом, так как микроскопически трудно отличить окрашивание в результате бактериального блэк-чафф от естественной пигментации. Можно было предположить, что пигментация чисто физиологического происхождения в ряде случаев принимается за бактериальный блэк-чафф.

Некоторые исследователи считают, что внешние факторы могут быть причиной пигментации колоса. Так, Максимчук [11] считает причиной пигментации засуху. Присяжнюк [14] отмечает, что пигментация может появляться от чисто внешних причин — света или температуры, независимо от бактериальной инфекции.

Ряд исследователей получил окрашивание междоузлий некоторых сортов пшеницы под действием высокой температуры во влажной камере.

Так, Броудфут и Робертсон (Broadfoot a. Robertson [17]) сообщили, что на некоторых сортах пшеницы встречался тип пигментации, появление которого авторы связывают с определенной интенсивностью света (псевдоблэк-чафф).

Указанные предположения, не подкрепленные, однако, экспериментально, были приняты во внимание в работе Хэгборга (Hagborg [18]). Автор ставил специальные опыты по выяснению влияния неблагоприятных внешних условий на окрашивание междоузлий у пшениц и сделал вывод, что это явление относится к типу окрашивания, называемого меланизмом. Он полагает, что темное окрашивание, связанное с бактериальным блэк-чафф, не вызывается непосредственно возбудителем, а является результатом изменения химических процессов в растении. В частности, это может зависеть от изменения окислительно-восстановительных процессов в клетках растений. Далее, автор указывает, что изучение явлений окрашивания чешуек и междоузлий может дать результаты только при детальном исследовании влияния окружающих условий на развитие пигментации.

Таким образом, на основании полученных нами данных о том, что из окрашенных колосьев пшеницы не выделяется возбудитель блэк-чафф и учитывая вышеприведенные литературные данные о наличии почернения колоса небактериального происхождения, мы считали необходимым провести опыты по выяснению влияния внешних условий на почернение колоса.

Для этого яровая пшеница была выращена в вегетационных сосудах с кварцевым песком и полной питательной смесью Прянишникова. Поливка сосудов проводилась по весу. После прореживания в каждом сосуде было оставлено по 12 растений. Повторность опытов двукратная.

Испытывалось два сорта пшениц — Лютесценс 062 (невосприимчивый сорт) и Цезиум 0111 (восприимчивый сорт). Семена дезинфицировались сулемой (1 : 1000) в течение 30 минут.

Опыты велись с воздействием высокой температуры без заражения растений и с заражением растений непатогенными желтопигментными бактериями, выделенными из почерневших колосьев. Последнее дости-

галось опрыскиванием колосьев суспензией суточной агаровой культуры.

Взрослые растения в фазе цветения и молочной спелости помещались во влажную камеру при температуре 30—35°. Контрольные растения оставались при обычной температуре в 22—25°.

После выдерживания в камере в течение определенного времени растения, как опытные, так и контрольные, были вынесены в вегетационный домик и оставались там до созревания и уборки урожая.

Мы убедились в том, что во всех вариантах опыта с сортом Лютесценс 062 отсутствовало почернение колосьев.

Для сорта Цезиум 0111 отмечается наличие окрашенных колосьев на растениях, подвергавшихся воздействию высокой температуры как без заражения бактериями, так и с заражением непатогенными Bacterium herbicola.

Контрольные растения не дали окрашивания. Аналогичные опыты, проведенные с пшеницей в фазе молочной спелости, не вызвали почернения колоса ни в одном варианте опыта. Можно сделать вывод, что восприимчивой фазой к влиянию высокой температуры является фаза цветения.

Таким образом, наши данные позволяют считать наличие почернений колоса у сорта Цезиум 0111 результатом воздействия внешних условий, т. е. в данном случае высокой температуры.

Для сравнительного изучения желтопигментных бактерий было произведено сравнение наших культур с музейной культурой возбудителя блэк-чафф Xanthomonas translucens var. undulosum.

Проверка показала, что последняя патогенна при искусственном заражении проростков пшеницы и ячменя в лабораторных условиях и при заражении семян и взрослых растений в оранжерее.

От желтопигментных эпифитных бактерий, находящихся в большом количестве на пшенице, она отличается по ряду биохимических признаков, а также по цвету и форме колоний, характеру и скорости роста на питательных средах. Подробное сравнение культур будет дано в отдельном сообщении.

Выводы

1. Возбудитель бактериального блэк-чафф Xanthomonas translucens var. undulosum отсутствует среди желтопигментных бактерий на пшенице с типичными внешними признаками почернения верхних частей чешуек колоса.

2. Экспериментально показано, что почернение колоса пшеницы, типичное для черного бактериоза, вызывается в определенных условиях внешними факторами (высокая температура при повышенной влажности).

Московское отделение
Института сельскохозяйственной
микробиологии

Получено 6.XI.1950 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Беленький Д. Э. и Попова Н. Н. Капельный метод агглютинации и его применение для диагностики черного бактериоза пшеницы. Доклады ВАСХНИЛ, вып. 14, 19 и 26, 1939.
2. Викторова О. Н. Бактериозы пшеницы в Ростовской области. Доклады ВАСХНИЛ, вып. 21—22, 24, 1939.
3. Горленко М. В. Бактериоз колосьев яровой пшеницы и его вредоносность. Защита растений, Сб. 3, 82, 1935.
4. Горленко М. В. Об источниках инфекции яровых пшениц бактериозом колосьев. Защита растений, Сб. 8, 109, 1936.
5. Горленко М. В. Устойчивость озимых пшениц к черному бактериозу. ДАН СССР, Новая серия, XVIII, № 2, 97, 1938.

6. Горленко М. В. Изучение представителей семян пшеницы против черного бактериоза. Доклады ВАСХНИЛ, вып. 19, 20. 1939.
7. Горленко М. В. Патогенность различных рас Bact. translucens var. undulosum для пшениц. Доклады ВАСХНИЛ, № 9, 26, 1941.
8. Горленко М. В. и Найденко А. И. Новые данные по изучению черного бактериоза пшеницы. Доклады ВАСХНИЛ, вып. 2—3, 19, 1939.
9. Горленко М. В., Найденко А. И. и Клыков А. П. Экспертиза пшениц на возбудителя черного бактериоза в полевых условиях. Доклады ВАСХНИЛ, вып. 14, 30, 1939.
10. Израильский В. П. и Казакова А. А. Бактериоз пшеницы. Тр. Научно-исслед. ин-та зерна и продуктов его переработки, вып. 13, 38, 1934.
11. Максимчук Л. И. К вопросу о почернении колоса у озимой пшеницы. Тр. с.-г. ботаники, 1, вып. 1, 1926.
12. Оксентьян У. Г. Бактериозы пшеницы, их распространенность в СССР и приемы диагностики. Итоги научно-иссл. работ Всесоюзного ин-та с.-х. микробиологии за 1939 г., стр. 83, 1941. Огиз — Сельхозгиз.
13. Оксентьян У. Г. Распространение и диагностика бактериоза пшеницы, вызываемого Ps. atrofaciens. Доклады ВАСХНИЛ, вып. 4, 45, 1948.
14. Присяжнюк А. А. Новая бактериальная болезнь пшеницы «блэк-чафф» в Нижне-Волжском крае. Защита растений, 8, № 3, 305, 1931.
15. Фомин Е. Е. Бактериоз пшеницы. Бюллетень Харьковской опытной станции, № 9, 26, 1928.
16. Ячевский А. А. Бактериальные болезни хлебных злаков. Тр. ин-та прикладной ботаники, 14, вып. 1, 377, 1825.
17. Broadfoot W. C. a. Robertson H. T. Pseudo black-chaff of Reward wheat. Scient. Agr., 13, No. 8, 512, 1933.
18. Hagborg W. A. T. Black-chaff, a composite disease. Canad. J. Res. Section C, 14, No. 9, 347, 1936, Ottawa.
19. Jones L. R., Johnson A. G. a. Reddy C. S. Bacterial blight of barley. J. Agr. Res., 11, No. 12, 625, 1917.
20. Smith E. F., A new disease of wheat. J. Agr. Res., 10, 51, 1917.
21. Smith E. F. Black-chaff. U. S. Dept. Agr. B. P. Y. Plant Disease Survey Bull., 2. 98, 1918.
22. Smith E. F., Jones L. R. a. Reddy C. S. The black-chaff of wheat. Science (n. s.), 50, 48, 1919.

СПЕЦИАЛИЗАЦИЯ ВОЗБУДИТЕЛЯ ИНФЕКЦИОННОГО УСЫХАНИЯ ЛИМОНОВ (DEUTEROPHOMA TRACHEIPHILA PETRI)

М. К. Хохряков

Знание специализации возбудителя болезни и дифференциации его на специализированные формы или физиологические расы дает ключ к пониманию особенностей развития заболевания и является необходимым при выведении устойчивых против этой болезни сортов растений. Эти положения целиком применимы и по отношению к инфекционному усыханию лимонов, вызываемому грибом Deuterophoma tracheiphila Petri. Поэтому в связи с всесторонним исследованием этого заболевания лимонов, предпринятым Всесоюзным институтом защиты растений в 1948—1949 гг., проводились работы и в указанном направлении.

Ознакомление с литературными данными по этому вопросу показало, что имеются указания преимущественно Руджиери (Ruggieri [8]) о различной степени восприимчивости к инфекционному усыханию не только различных видов цитрусовых культур, но и сортов лимона. В числе сильно поражаемых приводятся для Италии сорта лимона Эврика, Лисбон, Вилья Франка, для Турции, по данным Гасснер (Gassner [4]), Иерли, а из распространенных в Советском Союзе, по данным Канчавели и Гикашвили [2],— лимон сорт Новогрузинский. Кроме лимона, этому заболеванию сильно подвержено большинство сортов цитрона (Citrus medica L.), бигарадии (C. aurantium L.), ляйма (C. aurantifolia Swingle), ю-дзу (C. junos Tan.) и ряд других. Наоборот, в числе устойчивых к этому заболеванию приводятся в Италии сорта лимона Интердонато, Монакелло, Кватрокки, в Палестине, по данным Рейхерт (Reichert, [7]), Манчаг, в Турции — Молля Мехмед, а из сортов, культивируемых в Советском Союзе,— лимон Мейера, Кабо-лимон. Из других культур устойчивыми также являются мандарин, апельсин, помпельмус, грейпфрут, бергамот, кинкан и др. Некоторые из разновидностей и сортов цитрусовых культур занимают промежуточное положение по своей устойчивости, поражаясь в средней степени, как, например, в Италии мандарин-каломондин (C. microcarpa Bunge), сорта лимона Синатра, Доппио, Континелля, лимон Мейера № 662, трифолиата (Poncirus trifoliata Raf.) и др.

По данным Гасснер [4], Канчавели и Гикашвили [2], восприимчивость цитрусовых культур к инфекционному усыханию находится в обратной зависимости от их морозостойкости и коррелирует с урожайностью, т. е. устойчивостью обладают малоурожайные сорта.

Что же касается внутривидовой дифференциации возбудителя, то сведения по данному вопросу отрывочны, и наиболее заслуживает внимания указание Петри (Petri [6]) о наличии двух рас. D. tracheiphila: хромогенной из Италии и ахромогенной (бесцветной) из Палестины и Греции, различающихся, кроме того, несколько по размеру конидий в чистой культуре и характером культуральных признаков.

Все эти данные необходимо было проверить в условиях Советского Союза, характеризующегося иным набором разновидностей и сортов цитрусовых культур и несколько иными климатическими особенностями.

Выполнение работ производилось как методом наблюдений в природе

над поражаемостью различных цитрусовых растений инфекционным усыханием с последующим выделением возбудителя в чистую культуру, так и методом искусственного заражения различных цитрусовых культур чистыми культурами имевшихся штаммов возбудителя болезни. Выполнение работ первым из указанных методов способствовало, кроме того, накоплению различных штаммов возбудителя, изучение специализации которых, а также их культуральных свойств давало материал для заключений о наличии у гриба внутривидовой дифференциации.

Выделение штаммов возбудителя болезни в чистую культуру производилось путем посева простерилизованных в спирте или в растворе сулемы и затем промытых в стерильной воде кусочков древесины пораженных ветвей на глюкозный агар в чашки Петри.

Заражение взрослых цитрусовых растений штаммами D. tracheiphila производилась непосредственно в природной обстановке путем нанесения кусочков чистой культуры гриба (вместе с агаром) на обнаженную древесину ветвей. Для этого производились два поперечных надреза коры на расстоянии 1—1,5 см друг от друга и между ними — один продольный разрез; надрезанные кусочки коры отгибались и на обнаженную древесину, дополнительно перед тем пораненную скальпелем, наносился гриб, а створки коры затем снова пригибались к древесине. На месте заражения сразу же наносилась смоченная в воде муфточка из гигроскопической ваты, которая для предохранения ее от высыхания обертывалась пергаментной бумагой, края бумаги привязывались (стягивались) нитками к инокулированной ветви. Получался, таким образом, бумажный изолятор, предохранявший от испарения влаги из ваты в течение нескольких суток. Изоляторы и высохшая вата удалялись, как правило, через месяц. Заражению подвергались как молодые ветви прироста данного года, так и прошлогодние части ветвей. Опыты проводились в 10-кратной повторности, т. е. на том или ином виде или сорте цитрусового дерева каждым штаммом гриба заражалось 10 ветвей. Всего, таким образом, за два года было произведено в общей сложности свыше 2100 опытов.

Метод исследования подозрительных на заражение ветвей цитрусовых культур, подвергшихся заражению, сводился: 1) к анатомическому исследованию засохших ветвей с целью обнаружения в сосудах древесины гиф паразита и 2) к реизоляции возбудителя инфекционного усыхания из тканей ветвей в чистую культуру.

Культуральное изучение накопленных штаммов D. tracheiphila производилось в основном на двух средах: 1) на глюкозном агаре (с 1% глюкозы), так как на этой среде штаммы характеризовались определенной пигментацией и образованием конидий, и 2) на картофельном агаре, поскольку для большинства штаммов эта среда обеспечивала образование пикнид с пикноспорами. В отдельных случаях применялся агар Чапека, лимонный агар и др.

В результате проведенных в течение двух лет работ было выявлено, что в естественных условиях инфекционным усыханием поражаются 8 видов, разновидностей и сортов цитрусовых растений. Сведения о степени и частоте встречаемости поражений, а также о подтверждении диагноза методом выделения возбудителя в чистую культуру представлены в табл. 1.

Таким образом, изучение круга поражаемых инфекционным усыханием цитрусовых культур в условиях Советского Союза одним только методом наблюдения в природе позволило выявить, помимо лимона, целый ряд других культур, подверженных данному заболеванию в той или иной степени. Эти результаты наблюдений в природе подкреплены соответствующим выделением возбудителя в чистую культуру. Последнее обстоятельство способствовало накоплению в общей сложности 15 штаммов, которые были использованы не только для сравнительного культу-

Таблица 1

Поражаемость цитрусовых культур инфекционным усыханием в естественных условиях

№ п/п	Культура	Частота и степень поражаемости	Выделение возбудителя в чистую культуру
1	Лимон (Citrus limonum Burm. f.) а) сорт Новогрузинский б) сорт Лисбон в) сорт Эврика	В сильной степени Поражались в одинаковой степени с Новогрузинским лимоном	Выделено 2 штамма из различных географич. точек и 2 штамма получены от других учреждений
2	Кабо-лимон (C. bajoura Luss var. limoniformis Luss)	Значительно слабее, чем лимон Новогрузинский. Будучи пораженным, лучше противостоит заболеванию	Выделен 1 штамм, а другой штамм получен от А. Е. Проценко
3	Бигарадия (C. aurantium L.)	Будучи представлена единичными деревьями, поражалась в одинаково сильной степени наряду с Новогрузинским лимоном	Выделен 1 штамм
4	Апельсин (C. sinensis Osb.) сорт Вашингтон Навел	Единичные больные растения или группы их наблюдались в 3 различных хозяйствах	Соответственно выделено 3 штамма
5	Мандарин-уншиу (C. unshiu Marc.)	Изредка поражается в отдельных хозяйствах в слабой степени. Процесс засыхания больных растений по симптомам и темпам почти не отличается от такового у лимона	Выделено 2 штамма, а 1 штамм получен от другого учреждения
6	Трифолиата (Poncirus trifoliata Raf.)	Заболевание наблюдалось в единичных случаях. Степень поражения средняя	Соответственно выделено 2 штамма-возбудителя

рального изучения, но и для проверки их патогенности и выявления различий в их специализации.

Положительные результаты заражений были не столь обильными, но они с несомненностью доказывают, что круг поражаемых инфекционным усыханием цитрусовых культур может быть еще шире, чем это было выявлено методом наблюдения в природе. Как видно из табл. 2, пораженными в той или иной степени оказались всего 8 видов, разновидностей и сортов цитрусовых культур, половина из которых является общими с выявленными предыдущим методом (наблюдениями в природе), а другая половина является дополнением к списку поражаемых данным заболеванием цитрусовых культур. В качестве таковых дополнительно выявлены: 1) лимон сорт Вилья Франка; 2) чалмовидный помпельмус (C. junos Tan. × C. grandis Osb.); 3) апельсин (C. sinensis Osb.), сорт местный и 4) кинкан (Fortunella margarita Swingle).

Таким образом, в результате работ по изучению специализации D. tracheiphila Petri в условиях Советского Союза было выявлено, что инфекционное усыхание не является заболеванием, строго приуроченным к культуре одного лимона, оно в равной мере является опасным и для культуры бигарадии и чалмовидного помпельмуса, в средней степени — для Кабо-лимона и в меньшей степени — для культур апельсина, мандарина-уншиу, трифолиаты и кинкана, в связи с чем было бы правильнее называть это заболевание «инфекционным усыханием цитрусовых культур». Такое название вполне согласуется с данными приведен-

Таблица 2

Результаты инокуляции цитрусовых культур штаммами D. tracheiphila в 1948—1949 гг.

№ п/п	Цитрусовые культуры и их сорта	Всего испытано штаммов	Из них дали		Примечание
			полож. результат	отрин. результат	
1	Лимон сорт Новогрузинский	12	4	8	
2	Лимон сорт Вилья Франка	2	2	0	
3	Кабо-лимон	12	4	8	
4	Лимон Мейера	1	0	1	
5	Мандарин-уншиу . . .	12	0	12	
6	Иволистный мандарин	12	0	12	
7	Мандарин-клементин	12	0	12	
8	Апельсин сорт Вашингтон Навел	12	0	12	
9	Апельсин сорт местный	12	2	10	
10	Бигарадия	12	4	8	
11	Шива-микан	9	0	9	
12	Натсу-микан	9	0	9	
13	Грейпфрут	4	0	4	
14	Таитянский лимон . .	7	0	7	
15	Чалмовидный помпельмус	1	1	0	Единственное дерево, нацело погибшее от инокуляции
16	Трифолиата	12	6	6	
17	Кинкан	9	1	8	

ной таблицы устойчивости (и восприимчивости) различных цитрусов к инфекционному усыханию, составленной на основании доступных нам литературных данных и результатов наших исследований (табл. 3). В этой таблице цитрусовые культуры расположены по системе Лусса [3], а номера, следующие за буквами C.E.S., означают те номера, под которыми растения значатся в коллекции Калифорнийской экспериментальной станции.

Культуральное изучение штаммов возбудителя инфекционного усыхания показало, что в условиях чистых культур они ведут себя неодинаково. Штаммы различались между собой по целому ряду культуральных признаков, в частности по пигментации мицелия и среды (агара с глюкозой), по способности образовать пикниды и конидиальную стадию типа Phialophora, иногда по размерам конидий. Особенно различались штаммы по пигментации на агаре с глюкозой. Окраска варьировала от светлорозовой и ярко оранжевой до темнобурой и оливковобурой.

Попутно подмечено, что в тех случаях, когда в культурах образуется конидиальная стадия, пикниды, как правило, не образуются. У более свежевыделенных штаммов при культивировании их на картофельном агаре пикниды образуются в изобилии, но по мере пересевов это свойство постепенно теряется. Равным образом, очевидно, свежевыделенные штаммы обладают большей вирулентностью. Наибольшая вирулентность, повидимому, свойственна штаммам с наиболее интенсивно выраженным темнобурым пигментом. К числу таковых, в частности, относится штамм № 4 с мандарина, который в опытах инокуляции дал наибольшее число положительных результатов (заражений).

Таблица 3

Таблица устойчивости цитрусов к инфекционному усыханию

№ п/п	Виды, разновидности и сорта цитрусовых культур	Степень устойчивости	По чьим данным	Примечание
	Род Citrus			
	Подрод Primocitrus Luss			
	Секция Papeda Tan.			
1	Citrus macroptera Mont., C. E. S. 432	Малая	Руджиери [8]	
	Секция Osmocitrus Tan.			
2	Ичанг-кан — C. ichangensis Swingle, C. E. S. 1219	Малая	Руджиери [8]	
3	Ю-дзу — C. junos (Sieb.) Tan.	„	„	
4	О-ю, чалмовидный помпельмус — C. junos Tan. × C. grandis Osb. (Syn. C. macrocarpa Koshin)	„	Автора	
5	Гибрид C. Webberi West. var. montana, C. E. S. 767	„	Руджиери [8]	
	Подрод Cephalocitrus Luss			
6	Помпельмус — C. grandis Osb.	Большая	Руджиери [8]	По Руджиери, объединяется с грейпфрутом
7	Грейпфрут — C. paradisi Macf.	„	Руджиери [8] и автора	
8	Натсу-микан — C. natsudaidai Hayata	„		
9	Гибрид — C. longispina West., C. E. S. 754	Малая	Руджиери [8]	
	Подрод Citratus Luss			
	Секция Limonellus Tan.			
	Ляйм — C. aurantifolia Sw.		Руджиери [8]	По Руджиери, объединяется с лиметтой — C. limetta Riess.
	Все сладкодушистые сорта в Италии, в том числе:			
10	Romana	Малая	То же	
11	Zuccherina	„	„ „	
12	Rugosa	„	„ „	
13	Balady или Egiziana	„	„ „	
14	Bearse Seedless	„	„ „	
15	Dolce di Palestina	Средняя	„ „	
16	Aromatica, C. E. S. 758	„	„ „	
	Секция Citrophorum Tan.			
	Подсекция Citrinus Luss			
17	Цитрон — C. medica L.	Малая	Петри [5], Гаснер [4]	
18	Diamanté и все другие сорта в Сицилии и Калабрии	„	Руджиери [8]	
19	Карна-лимон — C. karna Raf. (Syn. C. khatta Marc.)	„	То же	По Лусу, гибрид цитрона × померанец или цитрона × джамбири
	Лимон — C. limon Burm f.			
20	Interdonato Италия	Большая	Петри [5, 6] Айон,*	Гибрид лимона × цитрон
	Турция	„	Руджиери [8]	Малоурожайный
	Палестина	„	Гасснер [4] Рейхерт [7]	

* Цит. по Канчавели и Гикашвили [2].

Таблица 3 (продолжение)

№ п/п	Виды, разновидности и сорта цитрусовых культур	Степень устойчивости	По чьим данным	Примечание
21	Monachello	Большая	Рейхерт [7]	
22	Quattrocchi	„	Руджиери [8]	
23	Tatli limon Турция	„	То же	
24	Molla Mehmed „	„	Гасснер [4]	
25	Manchag Палестина	„	То же	Малоурожайный
26	Sinatra Италия	Средняя	Рейхерт [7]	
27	Doppio „	„	Руджиери [8]	
28	Continella „	„	То же	
29	Эврика (Eureka)	Малая	„ „	
30	Лисбон (Lisbon)	„	То же и автора	
31	Вилья Франка (Villa franca)	„	То же „ „	
32	Femminella *	„	Руджиери [8]	
33	Yerli Турция	„	Гасснер [4]	
34	Новогрузинский	„	Канчавели и Гикашвили [2] и автора	
35	Грубый лимон (rugh lemon), джамбири C. jambiri Lush	„	Руджиери [8]	
36	Rugh lemon Limoneira. C. E. S. 123	„	То же	
37	Кабо-лимон—C. bajoura Luss var. limoniformis Luss (гибрид лимона × цитрон)	Большая Средняя	Канчавели и Гикашвили [2] и автора	
38	Лимон Мейера (гибрид лимона × апельсин?)	Большая	Канчавели и Гикашвили [2] и автора	
39	Meyer dwarf lemon, C. E. S. 662	Средняя	Руджиери [8]	
40	Borneo lemon, C. E. S. 2424	Малая	То же	
41	Lemon Real (Филиппины) C. E. S. 2317	„	„ „	
42	Italian lemon (Lyallpur)	„	„ „	
43	Lemon × native lime (Куба) C. E. S. 2324	„	„ „	
44	Id Lemon или Id Limbu (Poona)	„	„ „	
45	Круглый лимон — Kagzi (Калькутта)	„	„ „	
	Подсекция Limetta Luss			
46	Лиметта — C. limetta Riss.	Малая	Руджиери [8]	По Руджиери объединяется с ляймом (C. aurantifolia Sw.)
	Бергамот — C. bergamia Riss. et Poit.			
47	Femminello	Большая	То же	
48	Castagnaro	„	„ „	
	C. limonelloides Hayata			
49	Rangpur	Малая	„ „	
50	Таитянский пресносладкий лимон — C. limonelloides Hayata var. otaitensis (Riss. et Poit.) Luss	Большая	Автора	
	Подрод Chrysocitrus Luss Секция Aurantium Tan.			
51	Бигарадия — C. aurantium L. Италия	Малая	Петри [6]	
	Турция	„	Гасснер [4]	Молодые
	СССР	„	Автора	

* И почти все другие сорта в Сицилии, Калабрии и других районах Италии.

Таблица 3 (продолжение)

№ п/п	Виды, разновидности и сорта цитрусовых культур	Степень устойчивости	По чьим данным	Примечание
52	Все сорта в Италии, используемые в качестве подвоя	Малая	Руджиери [8]	
53	Pennisi	„	То же	
54	African, C. E. S. 1705	„	„ „	
55	Florida, C. E. S. 1690	„	„ „	
56	Daidai, C. E. S. 656	„	„ „	Возможно идентичен с натсу-микаком (см № 8 этой таблицы)
57	Aurantium, C. E. S. 2371	„	„ „	
58	Brasilian, C. E. S. 1110	„	„ „	
59	Paraguay, C. E. S. 660	„	„ „	
60	Standard, C. E. S. 628	„	„ „	
61	Bouquetier	Большая	„ „	
62	Сладкий апельсин — C. sinensis Osb.	„	Петри [5] Гасснер [4]	
63	C. sinensis сорт местный	„	Канчавели и Гикашвили [2] и автора	
64	„ „ сорт Вашингтон Навел	„	Автора и Канчавели и Гикашвили [2]	
65	Все сорта Италии, в том числе Old vini (Флорида) C. E. S. 283	„	Руджиери [8]	

Секция Mandarine Luss
Подсекция Intermedium Luss

66	Благородный мандарин — C. nobilis Lour. Италия	Большая	Петри [5]	
	Турция	„	Гасснер [4]	
67	Avana или мандарин из Палермо		Руджиери [8]	
68	Bonaccorsi	„	То же	
69	Мандарин гибрид или Citron giapponese (C. nobilis Lour. hybr.)	„	„ „	
70	Мандарин-уншиу — C. unshiu Marc.	„	Канчавели и Гикашвили [2], и автора	

Подсекция Eumandarine Luss

71	Итальянский (иволистный) мандарин — C. deliciosa Ten.	Большая	Автора
72	Мандарин-клементин, гибрид — C. deliciosa Ten.	„	
73	Шива-микан C — leiocarpa Tan. var. praecos Luss.	„	„

Подсекция Pseudofortunella Tan.

74	Мандарин-каломондин — C. microcarpa Bunge (Syn. C. mitis Blanco)	Средняя	Руджиери [8]

Таблица 3 (продолжение)

№ п/п	Виды, разновидности и сорта цитрусовых культур	Степень устойчивости	По чьим данным	Примечание
	Неясного систематического положения			
75	C. barness, trifoliata, C. E. S. 2554	Малая	Руджиери [8]	
76	C. pectinifera, C. E. S. 2448	„	То же	
77	Citrus sp.—Laranja de terra (Бразилия), C. E. S. 2374	„	„ „	
78	Citrus sp. (1) (Филиппины), C. E. S. 760	„	„ „	
79	Citrus sp. (2) Филиппины C. E. S. 643	„	„ „	
80	Citrus sp. Китай C. E. S. 1213	„	„ „	
81	Limequat, C. E. S. 1480	„	„ „	Гибрид ляйма × круглый кинкан?
82	Savage Citrange, C. E. S. 275	„	„ „	Гибрид трифолиаты × апельсин?
83	Gaugharaj (Dehra Dun)	„	„ „	
84	Bahari (Saharanpur)		„ „	
85	Bedana (Saharanpur)	„	„ „	
86	Jora Tenga Accam		„ „	
87	Hamdth rosso Марокко	„	„ „	
88	Hamdth biduco Марокко		„ „	
89	Lim (Марокко)	„	„ „	
	Род Poncirus			
90	Трифолиата — P. trifoliata Raf.	Средняя большая	Руджиери [8] Канчавели и Гикашвили [2], и автора	
	Род Fortunella			
91	Кинкан — F. margarita Swingle	Большая	Автора	

Выводы

1. Изучение специализации гриба Deuterophoma tracheiphila Petri, вызывающего инфекционное усыхание лимонов, показало, что это заболевание в равной мере опасно и для культуры бигарадии и чалмовидного помпельмуса, в средней степени — для Кабо-лимона и в меньшей степени — для культур апельсина, мандарина-уншиу, трифолиаты и кинкана.

2. В связи с этим было бы правильнее называть это заболевание инфекционным усыханием цитрусовых культур».

3. У возбудителя инфекционного усыхания цитрусовых культур намечается некоторая дифференциация на физиологические расы, различия между которыми выявляются не только при культуральном изучении его различных штаммов, но и при изучении их специализации.

Всесоюзный научно-исследовательский институт защиты растений
Ленинград

Получено 20.V.1950 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Канчавели Л. А. и Гикашвили К. Г. Тезисы докладов на XVI пленуме секции защиты растений ВАСХНИЛ, вып. 1, 1947.
2. Канчавели Л. и Гикашвили К. Тр. Ин-та защиты растений Акад. Наук Груз.ССР, V, стр. 1, 1948.
3. Лусс А. И. Цитрусовые культуры в СССР. Сельхозгиз, 1947.
4. Gassner G. Untersuchungen über das «Mal secco» oder «Kurutan» der Limonbäume. Phytopath. Z. Bd. XIII, H. 1, 1, 1940.
5. Petri L. Ricerche sulle causa del «Mal secco» dei limoni in provincia di Messina e sui mezzi per combatterlo. Boll. della R. Stazione di patologia vegetale, p. 229, 1927.
6. Petri L. Ulteriori ricerche sulla morphologia, biologia e parasitismo della Deuterophoma tracheiphila. Ebenda, N 2, p. 191, 1930.
7. Reichert J. The state of research in Citrus diseases in Palestine. Hadar, VII, p. 115, 1934.
8. Ruggieri G. Fattori che condizionano o contribuiscono allo sviluppo del «Mal secco» degli agrumi e metodi di lotta contro il melasimo. Anń. della Speriment Agraria, Nuova serie, vol. 11, 2, p. 255, 1948.

РОД NIGROSPORA ZIMM., ЕГО ВИДОВОЙ СОСТАВ И СИСТЕМАТИЧЕСКОЕ ПОЛОЖЕНИЕ

В. И. Потлайчук

Занимаясь изучением биологии гриба Nigrospora oryzae и выясняя его роль в качестве паразита растений, мы обратили внимание на то, что систематическое положение рода Nigrospora в целом неясно, в связи с этим возникла необходимость в критической проверке и обработке этого рода. Этому вопросу и посвящена настоящая работа.

Род Nigrospora установлен и описан в 1902 г. Циммерманом (Zimmerman [5]) по материалу на Panicum amphibium.

В том же году Моллиар (Molliard [4]) опубликовал описание аналогичного гриба, отнеся его к новому роду Basisporium.

Этот род, по мнению Моллиара, стоит близко к роду Pachybasium среди Botrytideae и к роду Rhinocladium среди Trichosporieae. Обнаруженному виду автором было присвоено наименование B. gallarum со следующим описанием: стерильные гифы 18 μ толщиной, спороносящие 4 μ густосептированные, конидии черные, 11—14 μ. На мертвых личинках Lipara lucens в галлах Phragmites communis.

В 1912 г. Дэйл (Dale [2]) изолировала B. gallarum Moll. из почвы (Англия), но автор не дает точного его описания.

В СССР виды рода Nigrospora зарегистрированы относительно недавно. В 1928 г. Ячевский [1] обнаружил на волокне хлопчатника гриб, близкий по морфологическим признакам к N. oryzae (B. et Br.) Petch., и выделил его в самостоятельный вид N. gossypii. Позднее Nigrospora oryzae была также отмечена в СССР на кукурузе, рисе и других растениях.

Из других работ следует отметить работу Мэзон (Mason [3]), касавшуюся морфологии всего рода Nigrospora и описания некоторых его видов.

Вопрос о систематическом положении рода Nigrospora мы разрешали на основе сравнительного анализа всех доступных нам образцов видов этого рода, а также путем наблюдений над развитием штаммов Nigrospora на различных искусственных и естественных субстратах.

Собственные исследования

В наших исследованиях были использованы различные материалы по роду Nigrospora, в том числе имеющиеся во Всесоюзном научно-исследовательском институте защиты растений гербарные образцы и чистые культуры выделенных нами разных штаммов рода Nigrospora. Одним из первых был выделен нами N. oryzae из початков кукурузы. Один штамм его был получен нами в Алтайском крае в 1944 г., второй — из Кировоградской области в 1947 г. Кроме того, при изучении микофлоры почв Алтайского края нам удалось выделить третий гриб, относящийся к этому роду. Выделили мы его с поля, где предшественником была кукуруза. Совершенно аналогичный гриб был выделен Камышко из почв Ленинградской области, где, как известно, кукуруза отсутствует, причем оба почвенных штамма Nigrospora из упомянутых географических точек СССР по окраске конидий имели промежуточное положение между B. gallarum Moll. и N. oryzae. В 1946 г. из Саратова в ВИЗР был прислан образец Sorghum saccharatum, зараженный (по нашему определению) N. sphaerica (Sacc.) Mason. Кроме живых объектов, нами были просмотрены представленные сотрудником Ленинградской областной карантинной лабораторией Яковлевой образцы

N. musae McLennan et Hoëtte на плодах Musa sapientum, фиксированные в формалине и определенные нами.

Для сравнения был также просмотрен N. gossypii в виде гербарного образца, собранного и определенного Ячевским и хранившегося в гербарии ВИЗР.

Количество же штаммов, которые были использованы для экспериментального изучения в живом виде, видно из следующего списка: штамм № 1 N. sphaerica, выделенный с Sorghum saccharatum из образца, собранного в Саратовской области; штамм № 2, выделенный нами с Zea mays в 1944 г., до момента работы с ним (1947) сохранялся в почве; штамм № 3 N. oryzae с Zea mays из Михайловского опорного пункта ВИЗР (Кировоградская обл., УССР); штамм № 4 — из почвы Ленинградской области.

Наблюдения над развитием штаммов Nigrospora на различных искусственных средах

Для первоначальных наблюдений над прорастанием конидий были использованы кольца Ван-Тигема. Прорастание конидий наблюдалось в капле воды на 3—4-й день при температуре 16—18°. После появления ростка на следующий день начиналось образование сплетения гиф вокруг прорастающей конидии. Примерно к этому моменту было приурочено внесение в каплю стерильного кусочка агара, чтобы обеспечить дальнейшее развитие гриба. В процессе прорастания конидии теряли свою черную окраску. Гифы же все время оставались бесцветными, септированными. Диаметр гиф, несущих конидии, был равен 3—4 μ, а стерильных гиф — до 18 μ. Конидии отличались по цвету: конидии первого и третьего штаммов имели смолисточерную окраску, второго и четвертого штаммов — несколько более светлую (желтовато-бурую или бурую). Конидиеносцы также различались в зависимости от штамма гриба.

Согласно описанию Циммермана род Nigrospora имеет бурый мицелий, в связи с чем он отнес его к семейству Dematiaceae. Моллиар, наоборот, описывая Basisporium gallarum, отмечал бесцветный мицелий и отнес его к семейству Mucedinaceae. Возможно, что именно это различие в окраске мицелия и послужило причиной выделения им самостоятельного рода Basisporium. Мы, работая с несколькими видами Nigrospora, также отмечаем наличие бесцветного мицелия, что заставляет нас присоединиться к мнению Моллиара.

Все исследованные штаммы грибов из рода Nigrospora высевались нами на различные среды с целью выяснения скорости роста, характера спороношения и размера спор. С этой целью нами испытывались четыре среды, в том числе богатые и бедные азотом. Результаты этой работы показали, что одни штаммы (№ 1 и 3) развиваются значительно активнее, чем другие (№ 2 и 4).

При развитии штамма № 4 на искусственной среде нами было отмечено образование хламидоспор 13,2—21,3 μ в диаметре. Они представляли собой интеркалярные утолщения гиф, имели бурую окраску и толстую оболочку.

Небезынтересно отметить, что при посеве штамма № 4 на искусственную среду намечалась сегментация колоний. В одном случае эти сегменты имели белый войлочный налет и были похожи на колонии штамма № 2, а другая часть имела желто-бурую окраску, типичную для штамма № 4. Эти наблюдения наводят на мысль о том, что различная окраска колоний гриба может образоваться в процессе изменчивости данной культуры.

Другая картина наблюдается у штаммов № 1 и 3. В чашках Петри на агаре они образуют вначале распростертые рыхлые колонии, по-

хожие на колонии Mucor, растущие по направлению к крышке, распространяющиеся по всей поверхности и напоминающие хлопья ваты; с возрастом мицелий уплотняется. Число этих уплотненных участков колоний со временем увеличивается. Что же касается конидий, то на размер последних оказывает некоторое влияние питательный субстрат, что видно из табл. 1.

Таблица 1

Размер конидий в микронах на различных средах

№ штамма	Среда Кука	Среда Чапека	Сусло-агар	Среда Цопфа
1	13,2—15 × 9,9—15	13,9—16,8 × 9,9—16,5	9,9—15 × 9,9—16	9,9—14 × 10—16,5
2	15	9,9—19,8 × 10—18	9,9—19,8 × 10—19	16
3	9,9—14,5 × 13,2—14,5	6—14 × 13,2—16,5	13,2—16,5 × 9,9—16,5	9,9—16,5 × 13,2—16
4	9,9—13,5 × 13,2—15,5	8,6—16 × 7—16	9,9—16 × 10,2—16	13

Следует отметить, что у штамма № 2 окраска конидий изменялась в связи с длительным существованием его в почве. Конидии в момент выделения с кукурузы имели черную окраску, а после трехлетнего нахождения гриба в почве окраска этих конидий приближалась к окраске конидий штамма № 4. В случае же кратковременного воспитания штамма № 2 вне растения (на разных средах), такого изменения в окраске конидий мы не обнаруживали.

Возможно, что штамм Nigrospora № 4 когда-то попал в почву и к настоящему моменту настолько приспособился к жизни в ней, что это сказалось и на его морфологических особенностях. Можно предполагать и обратное, а именно: что виды Nigrospora, в настоящее время приспособленные к паразитированию на растениях, были когда-то сапрофитами, обитающими в почве. В пользу первого предположения говорит как раз случай со штаммом № 2, помещенным в почву, сохранявшимся в ней на протяжении трех лет и имевшим морфологические признаки, средние между паразитными штаммами № 1 и 3, с одной стороны, и штаммом № 4, выделенным из почвы,— с другой.

Исходя из этих наблюдений, можно придти к выводу о довольно большой изменчивости видов Nigrospora в зависимости от внешних условий, в том числе и от фактора питания. Поэтому для решения вопроса о систематическом положении этих грибов необходимо принимать во внимание и их специализацию.

Наблюдения за развитием грибов на различных естественных субстратах

Для этой цели нами производилось искусственное заражение теми же штаммами Nigrospora кукурузы и хлопчатника. Заражение кукурузы производилось в лабораторных условиях. В чашках Петри на здоровые, вполне всхожие семена кукурузы наносились кусочки питательной среды

с чистой культурой различных штаммов гриба. В результате оказалось, что высеянные семена были поражены штаммами гриба № 1, 2 и 3, которые развивались на корешках, ростках и на старом зерне, причем особенно пышный рост гриба на ростке был отмечен у штамма № 1. Штамм № 4 развивался очень слабо на ростке и значительно активнее на старом зерне. В этом случае из 10 посеянных семян росток был заражен только на одном растении. Для выяснения вопроса о том, не проникает ли мицелий Nigrospora внутрь ткани растения, производился посев срезанных ростков, предварительно продезинфицированных в растворе спирта, на питательную среду. Только кусочки ростка, зараженные штаммом № 1, дали затем рост колоний гриба, чего в остальных случаях не наблюдалось. Не исключена возможность, что Nigrospora с Sorghum saccharatum проникает в росток, затем, следуя за точкой роста, попадает в метелку.

Штамм, выделенный с кукурузы, подобных результатов не дал, и поэтому можно было предполагать, что заражение кукурузы происходит через почву. Для того чтобы проверить это предположение, мы решили посеять семена кукурузы в почву, предварительно зараженную грибом. Оказалось, что прорастающие семена заражались. Гриб хорошо развивался на корешках и на кожуре зерен. На мицелии при этом возникали типичные для Nigrospora конидии.

Хлопчатник нами инокулировался в стадии зрелой коробочки. Коробочка приоткрывалась, и на волокно наносилась чистая культура того или иного штамма. Результаты заражения представлены ниже для каждого штамма в отдельности.

Штамм № 1. Гриб развивался очень интенсивно. Волокно в коробочках от большого количества конидий приобретало черный цвет. Конидии приплюснутой формы 13,2 × 16,5 μ.

Штамм № 2 — наблюдалось очень слабое развитие.

Штамм № 3 — развивался не только на волокне, но и на створках коробочек. Конидий было настолько много, что волокно приобретало серый цвет. Конидии 13 × 16,4 μ.

Штамм № 4 — роста гриба не отмечено.

На основании этих наблюдений можно придти к следующим выводам: штамм № 4 по своей приспособляемости к сапрофитной жизни в почве является наиболее обособленным и отличается от штаммов № 1 и 3 как по морфологическим признакам, так и по своему поведению на различных субстратах. Поведение штаммов № 1 и 3 резко отличается от такового у штаммов № 2 и 4. Первые являются агрессивными по отношению к растениям, вторые — приспособлены к сапрофитной жизни в почве. Исходя из этого, мы считаем возможным штамм № 4 отождествить с Basisporium gallarum, но, соблюдая правила приоритета, считаем необходимым его перенести в род Nigrospora, сохранив прежнее видовое название, т. е. Nigrospora gallarum (Moll.) comb. nova со следующей характеристикой: колонии на агаре имеют различную окраску — серую, желтовато-бурую, зеленовато-серую в виде войлочного налета с хорошо выраженной зональностью. С нижней стороны чашки Петри колонии всегда имеют черную пигментацию. Хорошо растет на средах Кука, солодовом агаре и агаре Чапека. Мицелий септированный, бесцветный. На гифах образуются конидиеносцы различной формы: булавовидные, округлые, вздутые. На них сидят шарообразной и неправильной округлой формы конидии, размеры 7—16 × × 6—16 μ. Конидии одноклетные, но иногда у основания имеется бесцветная или слабо окрашенная клетка, представляющая собой остаток конидиеносца.

С целью установления единообразия в названиях родственных грибов, представляем ниже характеристику рода Nigrospora с некоторыми дополнениями, полученными в результате наших исследований.

Род Nigrospora Zimmerman 1902

Род Nigrospora может рассматриваться как вполне естественная группа, которая характеризуется следующими признаками: воздушный мицелий в условиях чистых культур всегда хорошо развит, состоит из бесцветных септированных гиф. На искусственных питательных средах колонии пигментированные или белые. Конидиеносцы простые, короткие, иногда сближенные к концам гиф и вздутые. На вершине конидиеносцев поодиночно образуются шарообразные или с боков немного приплюснутые черного или бурого цвета гладкие конидии. Иногда в гифах образуются интеркалярные округлые хламидоспоры. Некоторые виды этого рода являются паразитными. Другие ведут сапрофитный образ, обитая в почве (рис. 1 и 2). Что же касается соотношения всего

Рис. 1. Расположение конидий у Nigrospora oryzae (B. et Br.) Petch

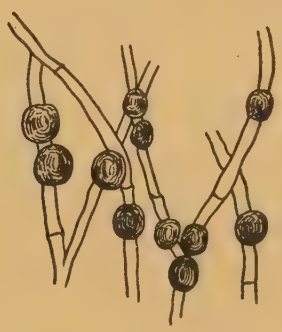


Рис. 2. Расположение конидий у Nigrospora gallarum (Moll.) comb. nova

рода с ближайшими группами, то, несомненно, самое тесное родство наблюдается с родом Rhinocladium, во многом род Nigrospora приближается также и к роду Trichosporium.

Нельзя не отметить того факта, что штамм Nigrospora, выделенный с кукурузы, но поддерживавшийся на протяжении трех лет в почвенных условиях, по расположению конидий имел большое сходство с родом Rhinocladium, однако последний отличается от рода Nigrospora окрашенным мицелием. Род Trichosporium характеризуется расположением конидий группами; наряду с этим некоторые виды Nigrospora, как N. sphaerica, N. oryzae и др., также имеют подобное расположение конидий, окраска которых у рода Nigrospora резко отделяет его от этих двух родов.

Далее мы пытаемся критически свести все основные виды данного рода и разобраться в их синонимике. Результаты всех этих изысканий с учетом наших экспериментальных исследований сведены для краткости в табл. 2.

В заключение приводим ключ для определения видов рода Nigrospora.

I. Конидиеносцы простые, короткие, в виде боковых ответвлений на вершине гиф, обратно-ампуловидновздутые.

Конидии расположены поодиночно

а) Конидии черного цвета.

1) На Panicum amphibium. Конидии шарообразно-приплюснутой формы 25—30×22—25 μ. N. panici Zimm.

Таблица 2

Таблица видов рода Nigrospora и их синонимика

№ п/п	Сохраняемые виды	Год описания	Их синонимы	Год описания
1	Nigrospora panici Zimm.	1902	Basisporium gallarum Moll. pro parte	1902
2	N. sphaerica (Sacc.) Mas.	1910	Trichosporium sphaericum Sacc.	1882
			Epicoccum levisporum Pat.	1893
			Epicoccum hyalopus Miyake	1910
			Coniosporium extremorum Syd.	1913
3	N. sacchari Mas.	1917	Glenospora sacchari Speg.	1896
4	N. oryzae (B. et Br.) Petch	1924	Sporotrichum maydis Garov.	1875
			Sporotrichum maydis Catt.	1873
			Monospora oryzae B. et Br.	1873
			Trichosporium maydis (Garov.) Sacc.	1873
			Memnonium palmicolum Cke	1877
			Acremoniella occulata Cav. pro parte	1893
			Glenospora elasticae Koorders	1907
5	N. javanica Palm.	1926	Acromoniella occulta Cav.	1893
			Basisporium gallarum Moll. pro parte	1902
6	N. gossypii Jacz.	1928	Trichosporium gossypii Jacz.	1928
7	N. canescens McLennan et Hoëtte	1934		
8	N. musae McLennan et Hoette	1934		
9	N. arundicanea (Cke et Massee) comb. nova	1949	Hadrotrichum arundinaceum Cke et Massee	1887
			Nigrospora sp.	1924
10	N. gallarum (Moll.) comb. nova	1949	Basisporium gallarum Moll.	1902

2) На Triticum vulgare, Cocos nucifera. Конидии 13—15 × 9—12 μ. ...N. javanica Palm.

б) Конидии бурого цвета.

Обитают в почве. Конидии имеют у основания маленький придаток в виде бесцветной или слабоокрашенной клеточки. Колонии гриба темного цвета. Конидии 11—16 μ в диаметре. ...N. gallarum (Moll.) comb. nova.

II. Конидиеносцы короткие вздутые. Конидии черного цвета, сидят на вершине ответвления в виде рыхлых групп.

1) На Oryza sativa, Zea mays, Miscanthus saccharatum, Cocos nucifera. Конидии 9—17 × 9—12 μ. ...N. oryzae (B. et Br.) Petch.

2) На Arundo conspicua. Конидии 30 μ. ...N. arundiacea (Cooke et Massee) comb. nova.

3) На Miscanthus saccharatum. Конидии 20—22 × 15—18 μ. ...N. sacchari Mason.

4) На листьях Musa. sapientum. Конидии 10—17 μ. ...N. canescens McLennan et Hoëtte.

5) На плодах Musa sapientum, Phragmites communis. Конидии 15—18 μ в диаметре. ...N. musae McLennan et Hoëtte.

6) На Musa sapientum, Pennisetum cladestinum, Panicum didactylum, Paspalum dilatatum, Chloris gagana, Sorghum saccharatum, Sorghum halapense, Rynchelytrum roseum, Imperata cylindrica. Конидии 16—18 × 13—15 μ. ...N. sphaerica (Sacc.) Mason.

7) На волокне и семенах Gossypium hirsutum ...N. gossypii Jacz. Конидии 9—16 μ.

Выводы

1. Исследуемые виды грибов из рода Nigrospora имеют специфические признаки (окраска, размер, расположение конидий на конидиеносцах), которые способны варьировать в зависимости от условий питания.

2. Наиболее постоянными признаками для видов являются черные (или почти черные) споры и бесцветный мицелий, что дает основания считать более обоснованным положение рода Nigrospora в семействе Mucedinaceae (а не Dematiaceae, как часто встречается в описаниях).

3. Виды рода Nigrospora могут приспосабливаться к паразитированию на растении и к сапрофитной жизни в почве.

4. Соблюдая правила международной номенклатуры, следует в качестве родового названия оставить Nigrospora Zimm., сведя родовые названия Basisporium, Acremoniella, Trichosporium, Memnonium, Monotospora и др. к числу синонимов.

5. Описанный Моллиаром Basisporium gallarum следует переименовать в Nigrospora gallarum (Moll.) comb. nova.

Всесоюзный научно-исследовательский институт защиты растений
Ленинград

Получено 3.VI.1950 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ячевский А. А. Болезни хлопчатника. Тр. по прикладной ботанике, генетике и селекции, XXIV, 173, 1930.
2. Dale E. On the fungi of the Soil. Ann. Mycol., X, 452, 1912.
3. Mason E. W. On species of the genus Nigrospora Zimm. recorded on Monocotyledons. Trans. Brit. Mycological Soc., XII, 152, 1927.
4. Molliard M. Basisporium gallarum n. g. et n. sp. Bull. Soc. Myc. de France, XVIII. No. 2, 167, 1902.
5. Zimmerman A. Ueber einige an tropischen Kulturpflanzen beobachtete Pilze. Ztbl. Bakt., II Abt., 8, 220, 1902.

ПРИМЕНЕНИЕ ПЛЕКСИГЛАСА ПРИ ИЗГОТОВЛЕНИИ МИКРОСКОПИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Ю. М. Залесский

В технике приготовления микроскопических, особенно микробиологических, препаратов, как известно, часто применяется мазок на предметном стекле с последующей его окраской, и микроскопирование в этом случае производится без покровного стекла. Однако длительное хранение таких препаратов вследствие их непрочности очень ненадежно: такие препараты не могут длительно служить и как учебные при преподавании.

Издавна применявшийся для заключения микроскопических препаратов канадский бальзам и в последнее время его заменитель — пихтовый бальзам — с течением времени могут кристаллизоваться, что исключается при применении в качестве заменителей канадского бальзама искусственных смол. Заменитель, предложенный для изготовления петрографических препаратов — карбинольный клей [1], неудобен для изготовления биологических препаратов, однако для последних с успехом может быть применено органическое стекло — плексиглас. В 1944 г., работая совместно с Терентьевым по использованию пластмасс в препараторской технике [1], автору удалось испробовать для изготовления микроскопических препаратов плексиглас (метилметакрилат). Для гистологических препаратов применялась следующая методика. Раствор твердого полимера плексиглаза в жидком его мономере или в каком-либо его растворителе — ацетоне, уксусно-этиловом эфире или дихлорэтане, имеющий консистенцию густого сиропа, наносился тонким слоем на гистологические препараты, предварительно подготовленные, окрашенные и обезвоженные обычным путем. Вскоре после испарения растворителя этот тонкий слой принимал вид пленки и, застывая, твердел, заменяя собой одновременно канадский бальзам и покровное стекло, будучи значительно более тонким, чем последнее. Проверка этой методики гистологами Кирпичниковой (Московский государственный университет) и Строгой (Институт морфологии животных Академии Наук СССР) подтвердила возможность ее применения. В некоторых случаях, однако, наблюдалось при этом нежелательное усиление интенсивности окраски гистологических срезов отдельными красителями. Очевидно, необходимо подобрать наиболее выгодную окраску препаратов и выработать соответствующую методику их подготовки перед закрытием пленкой плексигласа.

Позднее этот же метод был испробован на микробиологических препаратах-мазках, упомянутых выше. Этот метод и здесь себя вполне оправдал. Он проверен и впервые применен в 1946 г. на кафедре микробиологии Московского государственного университета при участии Работновой. Мазок покрывался раствором плексиглаза в дихлорэтане; после испарения растворителя удавалось получить тонкую прозрачную пленку, прочно защищавшую мазок и позволявшую применять иммерсию при микроскопировании.

Такой метод изготовления микробиологических препаратов имеет те преимущества, что мазок защищен несравненно лучше, чем при заключении в глицерин; он может длительно храниться и многократно применяться без риска быть испорченным при исследовании на практических

занятиях со студентами. Одновременно достигается как возможность изучения препарата в микроскоп с применением иммерсии, так и прочность заделки препарата, превосходящая заделку под покровное стекло. Покровные стекла при изготовлении постоянных фиксированных препаратов в микробиологической и гистологической практике становятся ненужными. Предметное стекло также может быть заменено небьющейся пластинкой из плексигласа. Учитывая то, что плексиглас хорошо пропускает ультрафиолетовые лучи, можно легко использовать подобные препараты при освещении объектов этими лучами, как, например, при флуоресцентной микроскопии [1].

Плексиглас был с успехом использован также для заливки макроскопических биологических объектов (насекомых, растений, раковинок фораминифер и др.); методика вкратце изложена в статье Залесского и Терентьева [1], там же можно найти данные по методике получения жидкого мономера плексигласа-метилметакрилата.

Получено 17. X. 1950 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Залесский Ю. М. и Терентьев А. П. Применение новых веществ в технике обработки и консервации геологических и палеонтологических объектов. Сб. Советская геология, № 27, 107, 1947.

[1] При флуоресцентной микроскопии выгодно, чтобы предметное стекло или заменяющая его пластинка из плексигласа наиболее полно пропускали ближний ультрафиолет, возбуждающий люминесценцию препарата, и невыгодно, чтобы покровное стекло или его заменитель свободно этот ультрафиолет пропускали в оптику микроскопа и в глаз исследователя. (Прим. редакции).

УЛЬТРАЗВУКОВЫЕ ВОЛНЫ В МИКРОБИОЛОГИИ

(Обзор)

И. Е. Эльпинер

Ультразвуковые волны находят все большее применение в бактериологии, иммунологии и энзимологии. Их использование основывается на выявленной способности ультразвуковых волн вызывать мгновенные разрывы клеток и клеточных структур. Такие разрывы клеток наблюдали Гарвей и Лумис (Harvey и Loomis, 1932). Им удалось подвести ультразвуковые волны к капле жидкости, содержавшей яйца морского ежа, и проследить за изменениями последних под микроскопом. Наступающие при данном воздействии морфологические повреждения эти авторы пробовали зафиксировать на фотопластинке. Для этой цели был сконструирован киноаппарат, дававший 1200 кадров в секунду. Выяснилось, что для разрыва клетки требуется меньше чем $^1/_{1200}$ секунды: яйцо, представляющееся неповрежденным на одном кадре, оказывается полностью разрушенным и разорванным на следующем, соседнем кадре.

Столь большим и быстрым разрушительным действием обладают ультразвуковые волны лишь определенной интенсивности. Как известно, в каждом месте среды, куда приходит звуковая волна, периодически происходят сгущение (сжатие) и разрежение. При прохождении звуковых волн большой интенсивности через жидкость в местах разрежения возникает разрыв сплошности озвучиваемой среды с образованием полого пространства. В образовавшуюся полость устремляются пары окружающей жидкости, сюда же диффундируют растворенные в ней газы. Это явление описывается под названием кавитации [1]. Приводимые ниже данные о бактерицидном и других биологических эффектах имеют место только в тех случаях, когда применяемая интенсивность акустических или ультраакустических колебаний является достаточной для образования кавитационных пузырьков газа в озвучиваемой среде. Более того, все мероприятия, препятствующие явлению кавитации, препятствуют и возникновению тех или других биологических процессов, вызываемых ультразвуком. Это также означает, что существует определенный предел интенсивности, ниже которого даже длительное озвучивание не приводит к явным нарушениям изучаемого биологического объекта (Эльпинер, 1950).

Всегда ультразвук вызывает разрушительное действие при интенсивности, сопровождающейся явлением кавитации. Вероятно, что при таких или при еще более высоких интенсивностях ультраакустических колебаний начинает приобретать значение и продолжительность озвучивания. Здесь сказывается чувствительность испытуемого биологического объекта к этому физическому агенту, обусловленная морфологическими и функциональными его (объекта) особенностями. Что касается микроорганизмов, то практически, меняя интенсивность и про-

[1] Более подробные данные о физических особенностях распространения звуковых и ультразвуковых волн и методах их генерации приводятся в ряде опубликованных монографий и статей: Бажулин (1938); Мандельштам и Леонтович (1937); Розенберг (1949); Ржевкин (1937); Эльпинер (1948); Истомина и Островский (1936).

должительность озвучивания, можно вызвать гибель почти всех видов бактерий.

Так, действию ультразвуковых волн поддаются светящиеся бактерии (Photobacterium fischeri). Озвученные бактерии теряли способность к люминесценции и не давали в дальнейшем роста (Гарвей и Лумис, 1929).

В поле ультразвуковых волн Ржевкин (1936) наблюдал распад сарцины на отдельные части. Бактерицидное действие оказывает ультразвук и на дизентерийные бациллы типа Шига-Крузе (см. Блинкин и др. 1946). При этом воздействии отмечается и гибель Bact. coli и Eberthella typhosa [Беквит и Вифер (Beckwith a. Weaver, 1936)]. По данным этих авторов, ультразвук разрушает и споры Bac. subtilis. Вегетативные клетки этой культуры предварительно уничтожались нагреванием до 80°в течение пяти минут. Затем культура озвучивалась 15 минут, что сопровождалось гибелью от 45 до 64% спор, находившихся в исследуемой жидкости. По данным этих авторов микрофлора молока также подвергается бактерицидному действию ультраакустических колебаний. Молочнокислые бактерии в физиологическом растворе оказались более чувствительными к ультразвуковым волнам, чем в молоке. Были предприняты исследования влияния ультразвука на Bact. coli в различных средах: в водопроводной воде, в 3%-ном растворе глюкозы или лактозы, в 0,75%- или 3%-ном растворе казеина и, наконец, в цельном молоке. Оказалось, что значительно труднее получить полную стерильность белковых растворов, чем растворов, содержащих углеводы. Не препятствует стерилизации наличие в растворе суспензии липоидов.

В цитируемой работе приводятся также данные о влиянии ультразвука на Saccharomyces ellipsoideus. Эти дрожжевые клетки выращивались в виноградном соке. После их озвучивания под микроскопом обнаруживались преимущественно отдельные фрагменты клеток; встречались лишь единичные целые и, казалось, неповрежденные клетки. Однако при последующем их инкубировании они не давали роста.

По данным Штумпф, Грин и Смит (Stumpf, Green a. Smith, 1946), в поле ультразвуковых волн подвергаются дезинтеграции грамположительные и грамотрицательные, аэробные и анаэробные бактерии, палочковидные, кокковые и другие формы микробов (см. также Доливо-Добровольский и Кузнецов, 1943). Отличие сказывается лишь в степени чувствительности различных микробов к данному виду физической энергии. При этом воздействии легко распадаются Salmonella typhimurium, Lactobacillus casei, Proteus morganii, Proteus vulgaris, Clostridium welchii, Pseudomonas fluorescens, Staphylococcus aureus и другие. Более устойчивыми оказались Sarcina lutea, Micrococcus lysodeikticus, Acetobacter suboxydans и Saccharomyces cerevisiae.

О различной чувствительности к ультразвуку разных видов и штаммов бактерий сообщают Грабар и Руайе (Grabar u. Royer, 1945), изучавшие влияние ультраакустических колебаний на разнообразные патогенные и непатогенные бактерии. По их данным, среди патогенных микробов наиболее устойчивыми оказались Mycobacterium tuberculosis, к менее устойчивым авторы относят Bact. paradysenteriae и Bac. anthracis. При воздействии на Bac. anthracis авторы наблюдали разрыв общей капсулы, окружающей микробную цепочку, состоящую из отдельных палочек. Известно, что с образованием капсулы связана вирулентность бациллы сибирской язвы.

В литературе имеются также указания на различную чувствительность к ультразвуку разных штаммов туберкулезных палочек. Менее чувствительны к интересующему нас физическому агенту сильно вирулентные палочки [Лапорт и Луазелер (Laporte et Loiseleur, 1945)]. Только 15% туберкулезных палочек, выделенных из спинномозговой жидкости человека, подвергались разрушению после двухчасового озву-

чивания (частота колебаний — 760 000 гц). Такая экспозиция является, по их наблюдениям, достаточной для полного разрушения всех микробов невирулентного штамма BCG.

Возможность разрыва туберкулезной микробной клетки в поле ультразвуковых волн подтверждена электронной микроскопией [Вельтман и Вебер (Weltman u. Woeber, 1950)]. Этим методом было установлено, что в одних случаях преимущественно разрушались концевые участки туберкулезной палочки, где сосредоточена крупная зернистость, в других — разрушалась только средняя часть тела микроба. Обращает внимание, что наряду с измельченными микробами, представлявшими мелкие обломки, обнаруживались совершенно неповрежденные микроорганизмы. Отдельные уцелевшие после длительного озвучивания туберкулезные палочки обнаруживал и Кресс (Kress, 1948). При этом палочки плохо окрашивались, по Циль-Нильсону. Кроме того, указывается, что озвученные туберкулезные палочки утрачивают свойство инфицировать животное. По экспериментальным данным автора, озвученный препарат обладал иммуногенными свойствами. Морским свинкам инъицировали $^1/_2$ мл озвученного препарата, а затем через шесть недель им вводилась вирулентная культура туберкулезных палочек (интраперитонеально или путем интраназальной аппликации). В группе из восьми животных, иммунизированных озвученным препаратом, после интраназальной аппликации вирулентной туберкулезной палочки ни одно животное не погибло в течение шести месяцев наблюдения. Патологоанатомическое вскрытие не выявило туберкулезного поражения органов или лимфатических желез. Однако приводимый автором материал количественно недостаточен для окончательных выводов.

Кресс получил аналогичные данные и в отношении Brucella abortus. Воздействуя ультразвуком на этот вид бактерий, Кресс установил среди полностью разрушенных Brucella, превратившихся в детрит (при продолжительности озвучивания 30 минут, частоте колебаний — 900 000 гц), наличие совершенно неповрежденных бактерий. При более продолжительном озвучивании (60—90 минут) автор отмечал присутствие клеток, плохо окрашиваемых обычными красками. При посеве эти бактерии давали замедленный рост. Эти микробы теряли свою вирулентность, но сохраняли иммуногенные свойства. Опыты проводились на морских свинках и на рогатом скоте. К сожалению, приведенные выводы Кресса также основываются на весьма ограниченном экспериментальном материале, на что указывает и сам автор. Им также указывается на то, что в его распоряжении не было достаточных средств для получения необходимых количеств ультразвукового препарата.

Следует отметить, что были сделаны попытки воздействовать на микроорганизмы, развившиеся в тканях и органах. Опыты проведены с кусочками печени, легких и селезенки, в которых имелись туберкулезные узелки [Вельтман и Вебер (Weltmann u. Woeber, 1950)].

Основанием для постановки таких исследований послужили сообщения об успешном терапевтическом применении ультразвуковых волн в клинике туберкулеза желез. Оказалось, что туберкулезные палочки, находящиеся в туберкулезных узелках того или иного органа, непосредственно не подвергаются разрушительному действию ультразвуковых волн даже такой интенсивности, при которой полностью повреждаются туберкулезные бактерии *in vitro*. Однако этим не исключается необходимость дальнейших исследований по терапевтическому использованию ультразвука при инфекционных заболеваниях. Терапевтический эффект того или иного физического агента не должен быть обязательно связан с его непосредственным действием на болезнетворный микроб в макроорганизме. Физический агент, в частности ультразвуковые волны, могут рефлекторным путем (через центральную нервную систему) вызвать повышение защитных сил организма.

Действие ультразвука на изолированные в жидкости отдельные животные и растительные клетки и микроорганизмы зависит определенным образом от количества клеток в единице объема озвучиваемой среды. Особенно четко выявилась роль концентрации животных клеток при изучении гемолизирующего действия ультразвуковых волн. Крайне медленно протекает гемолиз при больших концентрациях (100 000 в 1 мм³), при меньших концентрациях (20 000—160 000 в 1 мм³) почти все эритроциты разрушаются в весьма короткое время. При одной и той же мощности ультразвука и одинаковом объеме озвучиваемой жидкости для полного гемолиза требуется 75 минут, если эритроциты разбавлены изотоническим солевым раствором в отношении 1 : 5; такое же разрушительное действие наступает в течение 7 минут при разбавлении в 1 : 25 [Шоенер (Schoenaers, 1948)].

Значение концентрации клеток выявлено и при воздействии ультразвуковых волн на микроорганизмы: менее эффективно действие этого физического агента при более концентрированной взвеси микробов. В качестве примера можно привести данные о поведении в поле ультразвуковых волн трипаносом (Trypanosoma gambiense). При достаточной мощности ультразвука (15 вт подводимой мощности к 1 см² излучающей поверхности источника колебаний) трипаносомы разрушаются очень быстро: 60—90% в течение 10—15 секунд. Однако эффект этот строго зависит от количества паразитов в 1 мм³. Трипаносомы, находящиеся в 1 мм³ соответствующего раствора в количестве 14 100 экземпляров, разрушаются в течение 20 секунд озвучивания; при тех же физических условиях другая суспензия трипаносом, содержащая в 1 мм³ 48 000 паразитов, лизировалась в 75 секунд (Шоенер, 1948).

Поведение микроорганизмов в поле ультразвуковых волн определяется не только концентрацией клеток в озвучиваемой жидкости, повидимому, имеет значение и структура оболочки клетки. Существует предположение, что механические колебания вызывают механические разрывы озвучиваемых биологических объектов, в первую очередь их оболочек или пограничных мембран. По характеру этих разрывов пытаются судить об особенностях структуры и строения внешней оболочки микроорганизма. По данным Харм (Harme, 1949), под влиянием ультразвукового воздействия бактериальная стенка Klebsiella pneumoniae разрывается на отдельные разрозненные кусочки (наблюдения при помощи электронного микроскопа). В наружной оболочке дрожжевых клеток (Saccharomyces cerevisiae) обнаруживались только отдельные места повреждения, через которые содержимое клеток или часть его вытекала в окружающую среду. Характер разрыва микробной клетки многообразен; в этом отношении весьма показательно разрушение трипаносом в поле ультразвуковых волн. Их гибель под влиянием этого физического агента наступает внезапно и мгновенно. То отрывается свободная часть жгутика, то жгутик вырывается вместе с участком тела, к которому он прикреплен, то тело как бы разрезается на две неравные части и т. д. Иногда отмечалось набухание трипаносомы, появление в протоплазме вакуолей, потеря протоплазмой базофильных свойств и т. д. Лишь редко наблюдалась полная гибель всех присутствующих в жидкости трипаносом. У паразитов, уцелевших после озвучивания, обычно сохранялись структура, подвижность, вирулентность, способность к размножению и т. д.

Ультразвуком воздействовали и на Aspergillus niger. При относительно малых экспозициях озвучивания (60—80 минут) наблюдалось усиление роста этого гриба. При более длительных экспозициях (100 минут) отмечалась, наоборот, задержка в росте плесневого грибка. Озвучивание старой шестидневной культуры приводило к усилению аутолитических процессов и быстрому распаду мицелия. ,

Следует считать установленным, что разрушительное действие ин-

тенсивных ультразвуковых волн распространяется и на вирусы. Под влиянием этого воздействия вирусы разрушаются, инактивируются, а иногда и разрываются на отдельные, более мелкие части. Существующие по этому вопросу в литературе разноречивые данные вызваны, повидимому, тем, что физические условия воздействия не всегда у разных исследователей были одинаковыми. В настоящее время отсутствуют точные и доступные методы измерения интенсивности звуковых колебаний, что крайне затрудняет точное воспроизведение того или иного эксперимента. Кроме того, авторами часто не приводятся данные, касающиеся физических условий работы генераторных установок и способов подведения ультразвукового потока к озвучиваемому объекту.

Наиболее подробно изучено влияние ультразвука на вирус табачной мозаики. Воздействию ультразвуковыми волнами подвергались экстракты из измельченных листьев, пораженных названным вирусом. При этом обнаруживалась инактивация вируса, возраставшая при большей продолжительности озвучивания экстрактов [Такахаши и Христенсен (Takahashi a. Christensen, 1934)].

Разрушение вируса табачной мозаики наблюдали и при применении звуковых колебаний большой интенсивности (9000 гц). Автор озвучивал очищенный препарат вируса. Озвучивание продолжалось от 2 до 64 минут. В результате воздействия вирус терял свою активность. Кроме того, отмечалось падение вязкости озвученного препарата и уменьшение его двойного лучепреломления течения. Однако при этом не были обнаружены явления денатурации и какие-либо другие уловимые химические изменения. Озвученный препарат сохранил характерную для него изоэлектрическую точку при pH = 3,92. Но вместе с тем при помощи электронной микроскопии было установлено, что под влиянием упомянутого воздействия происходит дезагрегация вирусных частиц. В неозвученной суспензии вируса преобладали частицы (62%) длиной в 280 mμ [Остер (Oster, 1947)]. В процессе озвучивания длина частицы уменьшалась в 2, 4, 8 и 16 раз. Естественно, при более продолжительном озвучивании преобладали частицы меньшей длины.

На основании приведенных данных автор пришел к довольно ответственным выводам. По его мнению, биологически активны только те вирусы, длина тела которых составляет 280 mμ. Более мелкие частицы инертны в биологическом отношении. Этим автор объясняет инактивацию вируса табачной мозаики, вызванную ультраакустическими колебаниями.

О распаде частицы вируса табачной мозаики и о потере ею биологической активности под действием ультразвука (330 000 гц) сообщают и другие исследователи. Также указывается, что нативные частицы вируса по мере воздействия на них распадаются на части, прогрессивно убывающие в длине. Частицы, имеющие в длину 320 mμ, расщепляются на более мелкие частицы длиной в 160, 80 и 40 mμ. При этом утрачивается биологическая активность вируса. По данным авторов, половинки вируса сохраняют приблизительно около 60% активности целых частиц.

На равные части распадается не только вирус табачной мозаики. Под действием ультразвука расщепляются молекулы гемоцианина (исследования с ультрацентрифугой [Брохулт (Brohult, 1937)]. Явление это зависит от pH озвучиваемой среды. В поле ультразвука при pH = 6,2 около 20% молекул гемоцианина распадается на две равные половины. Большее количество молекул распадается на две половинки при pH = 7,2. Кроме того, при данном pH в озвученном растворе появляются молекулы, длина которых составляет $^1/_8$ часть длины первоначальной частицы гемоционина.

Возможно, что здесь имеет место дезагрегация белковой мицеллы на отдельные ассоциаты, до того связанные между собой «слабыми связя-

ми» (Талмуд, 1946). Не вызвана ли инактивация вируса табачной мозаики под влиянием ультразвука распадом этого белка на отдельные ассоциаты или глобулы? При анализе данных о влиянии этого физического агента на другие виды вирусов одновременно высказывались предположения о возможном механизме инактивирующего действия ультразвука. Так, под действием звуковых волн (8900 гц) инактивируются элементарные тельца вакцины. Оказалось, что такая инактивация не происходит, если в озвучиваемом растворе присутствуют некоторые посторонние вещества, особенно белки. Многократно промытый вирус вакцины из кожной пустулы кролика инактивируется звуковыми волнами. Однако инактивация этого вируса не наступает, если предварительно прибавить к нему небольшое количество сыворотки крови кролика. Вирус вакцины, развивавшийся в яйце, не инактивируется звуковой энергией, если он не был тщательно отмыт от постороннего белка [Риверс и др. (Rivers, Smadel a. Chambers, 1937)]. В связи с этим возникло предположение о возможном значении для процесса инактивации вируса окисляющих веществ, появляющихся в озвучиваемом растворе. От действия последних вирус может быть защищен посторонними веществами. К окисляющим продуктам авторы относят перекись водорода, образующуюся в водном растворе под действием ультразвуковых волн. Правда, выход перекиси водорода в этих условиях чрезвычайно мал — меньше 1% количества перекиси, необходимого для инактивации элементарных телец. Однако, как выяснено в настоящее время, процесс образования окисляющих продуктов в поле ультразвуковых волн более сложен и не сводится только к появлению перекиси водорода.

Инактивируются ультразвуком и другие вирусы, в том числе вирус полиомиелита. Для этого требуется, по данным авторов, экспозиция в 3—5 минут (частота колебаний — 450 000 гц (Kasahara и Ogata, 1938). Под влиянием этого воздействия разрушается и вирус энцефалита (Kasahara, Sha-Shi Nan u. Ogata, 1940). Эти авторы указывают на возможность сохранения иммуногенных свойств вируса энцефалита, инактивированного ультразвуком. Ослабление сыпнотифозного вируса, вызванное этим агентом, удалось отметить при экспозиции в 1 секунду (частота колебаний — 500 000 гц). Некоторым диссонансом звучат данные Шерп и Чемберс (Scherp u. Chambers, 1936) о том, что на патогенность вирусов полиомиелита, инфлуэнцы человека и инфлуэнцы свиньи не оказывают влияния звуковые волны такой интенсивности, при которой дезинтегрируются Eb. typhi u Str. hemolyticus. Речь идет, повидимому, не об абсолютной резистентности названных вирусов к ультраакустическим волнам.

Ультразвук полностью разрушает также дифтерийный токсин (Kasahara u. Toshiyuki, 1938). К этому кругу явлений относятся и наблюдения об инактивации этим агентом ферментов. В поле ультразвука полностью или частично инактивируется каталаза крови (Sibuya, 1936). Неодинаковым оказалось влияние ультразвука на разные ферменты молока. При одних и тех же условиях озвучивания было отмечено резкое снижение активности пероксидазы и амилазы, незначительное снижение активности редукдазы и отсутствие какого бы то ни было влияния на каталазу и липазу (Kasahara u. Takaaki, 1938). Значение приобретает здесь, повидимому, строение того или иного фермента, в значительной мере определяющее его поведение в поле ультразвуковых волн.

Вопрос о чувствительности тех или иных ферментов к ультразвуку тесно связан с проблемой их извлечения при помощи последнего из животных и растительных клеток и микроорганизмов.

Несмотря на то, что при озвучивании происходят мгновенные разрывы клеток, все же из числа экстрагируемых ферментов сохраняют свою активность только те, которые являются наиболее устойчивыми по отношению к ультразвуку.

Ультразвуковыми волнами удалось извлечь из Proteus vulgaris фермент (или группу ферментов), окисляющий природные *l*-аминокислоты. Оксидаза *l*-аминокислот была получена после разрушения ультразвуком названных клеток и последующего удаления клеточных остатков. Полученный фермент действовал на следующие *l*-аминокислоты: *n*-лейцин, фенилаланин, лейцин, триптофан, метионин, тирозин, *n*-валин, гистидин, аргинин, изолейцин и *α*-аминомасляную кислоту [Штумф и Грин (Stumpf a. Green, 1944)]. Во всех этих случаях были обнаружены соответствующие кетокислоты.

Ряд ферментов освобождается и при разрушении ультразвуковыми волнами клеток Cl. histolyticum [Кохолати и др. (Kocholaty, 1938)]. По данным авторов, свободные от клеток фильтраты, полученные из культуры молодых активно растущих Cl. histolyticum (12 часов), практически не содержат дипептидазы или полипептидазы (даже при длительной инкубации до 24 часов). Если же культуру предварительно разрушить ультразвуковыми волнами, то соответствующие бесклеточные фильтраты обнаруживают высокую пептидазную активность даже при короткой инкубации. Отсюда заключение авторов, что названные ферменты относятся к группе внутриклеточных ферментов.

В экстрактах из Cl. histolyticum, полученных ультразвуковыми волнами, была также обнаружена дезаминаза, действующая на *l*-аспарагиновую кислоту с образованием янтарной кислоты. Кроме того, в этих экстрактах было установлено наличие других ферментов, способных к аэробному дезаминированию глицина, *l*-лейцина, *l*-аланина, *d*-глютаминовой кислоты и *l*-триптофана.

Следует еще указать, что ультразвуковыми волнами удалось экстрагировать из пурпурных бактерий пигмент — так называемый бактериохлорофилл и каротиноидные соединения. Экстракты фотосинтезирующих бактерий, полученные ультразвуковыми волнами, не обладали способностью вызывать фотосинтез, но оказались фотокатализаторами, ускоряющими процессы окисления аскорбиновой кислоты видимым и инфракрасным светом [Френч (French, 1940)].

Во многих случаях успешными оказались попытки извлечения при помощи ультразвука из клеток токсинов, эндотоксинов, антигенов и других биологически активных веществ. Таким путем нам удалось получить эндотоксин коклюшной палочки (Эльпинер и Шейнкер, 1946; Шейнкер и Эльпинер, 1949). Озвучивалась культура коклюша в физиологическом растворе (частота колебаний 650 000 гц). После 15-минутного озвучивания в поле зрения обнаруживаются бактериальный детрит и плохо окрашиваемые уцелевшие микроорганизмы. Центрифугат такой взвеси, свободный от бактериальных обломков и микробных тел, обладал явно выраженным токсическим действием. Необходимо подчеркнуть, что извлечение ультразвуком эндотоксина осуществлялось без прибавления каких бы то ни было химикалиев, при строго стерильных условиях и при сравнительно низкой температуре.

Коклюшный эндотоксин, полученный ультразвуком, обладал антигенными и иммуногенными свойствами. Предварительно ослабленный выдерживанием на холоду, он оказался атоксичным и безвредным при полном сохранении иммуногенных свойств в отношении токсина.

Далее выяснилось, что более продолжительное озвучивание приводит к исчезновению токсических свойств коклюшного эндотоксина. Иными словами, как указывалось выше, ультразвук обладает способностью инактивировать извлекаемые из клеток биологически активные вещества.

Каков механизм биологического действия ультразвуковых волн?

В этом отношении высказывались различные гипотезы. Общепризнана роль кавитации в механизме действия ультразвуковых волн. Разногласие существует лишь в оценке значения тех или иных явлений, свя-

занных с образованием и дальнейшим развитием кавитационного пузырька. Много внимания уделяется порождаемым кавитацией механическим силам, способным осуществить механические разрывы макромолекул и более сложноорганизованных структур и могущим обусловить определенные химические процессы. Образующаяся полость может подвергаться в поле ультразвука сжатию и разрыву. При внезапном сжатии газового пузырька в жидкости вблизи его поверхности возникают огромные давления порядка тысяч атмосфер. Захлопывание (аннигиляция) такого пузырька сопровождается разрывом крупных молекул, сосредоточенных вокруг кавитационной полости (Полоцкий, 1947; Уразовский и Полоцкий, 1940). По мнению Полоцкого, аннигиляция пузырька вызывает и ионизацию газа, находящегося в озвучиваемой жидкости. Этим он объясняет появление в озвучиваемом растворе перекиси водорода, окиси и двуокиси азота. Последние, по его предположению, взаимодействуют с водой с образованием азотистой и азотной кислот.

Однако другого объяснения потребовали иные экспериментально установленные факты. Сюда относится явление свечения воды под действием ультразвуковых волн, подробно изученное Левшиным и Ржевкиным (1937). Ими было выявлено, что свечение воды во время озвучивания локализовано в газовых пузырьках и обусловлено, по их мнению, большими электрическими напряжениями, возникающими в кавитации. Эти представления были далее развиты Френкелем (1940) [см. также Бреслер (1940) и Натосон (1948)], указавшим, что в начальной стадии развития газового пузырька весьма вероятен электронный пробой, сопровождающийся излучением ультрафиолетовых лучей. Отсюда предположение автора о фотохимической природе химических процессов, протекающих в поле ультразвуковых волн (см. также Соловьева, 1936).

Однако необходимо добавить, что наличие свободно движущегося заряда в кавитационном пузырьке может привести к ионизации молекул веществ, присутствующих здесь в газообразном состоянии. В водной среде в кавитационной полости в газообразном состоянии присутствуют и подвергаются ионизации молекулы воды. В результате ионизации молекулы воды расщепляются с образованием так называемых нейтральных, валентно-ненасыщенных, свободных радикалов и атомарного водорода (OH, HO_2, H и др.), обладающих большой реакционной способностью. При захлопывании пузырька свободные радикалы распространяются в окружающей среде, где они могут взаимодействовать с растворенными в ней веществами.

Напомним, что в водных растворах под действием таких излучений, как рентгеновские, α-, β- и γ-лучи, также имеет место ионизация молекул воды и последующее их расщепление на свободные радикалы, определяющие часто наблюдающиеся при этом химические (возможно и биологические) процессы (Верещинский, 1951; Воеводский и Кондратьев, 1950).

Представления о возникновении свободных радикалов в озвучиваемой водной среде нашли косвенное подтверждение в ряде предпринятых нами исследований. Так, под действием ультразвуковых волн наблюдается не только разрыв нативной белковой молекулы на отдельные глобулы, но и более глубокие ее изменения (Эльпинер, 1950). Эти данные были получены при помощи полярографического метода, отличающегося исключительной чувствительностью и регистрирующего тончайшие изменения, происходящие в белковом растворе (Кольтгоф и Лингейн 1948; Эльпинер, 1947). Распаду подвергаются и индивидуальные аминокислоты, преимущественно аминокислоты циклического строения (Эльпинер, Збарский, Харламова, 1950). Также расщепляются в поле ультразвуковых волн дезоксирибонуклеинат натрия (Збарский, Эльпинер, Харламова, 1951). Под этим же воздействием наблюдается и распад порфириновых ядер (Эльпинер, Блюменфельд, Красовицкая, 1951). При этом

удалось показать, что в атмосфере водорода ультразвук вызывает процессы восстановления названных соединений, а в атмосфере кислорода — процессы их окисления. В зависимости от природы газа, которым насыщается озвучиваемый раствор, наблюдается восстановление или окисление иода (Эльпинер, Колесникова, 1950). Важно другое. При одних и тех же условиях воздействия ультразвуком распаду подвергается всегда одно и то же количество реагирующего вещества (естественно, начиная с определенной концентрации). Это означает, что в одном и том же объеме водного раствора при одинаковых условиях озвучивания образуется одинаковое количество вещества, обладающего окисляющим или восстанавливающим свойством. При наличии в растворе двух или нескольких веществ, способных реагировать с окисляющими или восстанавливающими продуктами, процессу окисления или восстановления будет подвергаться то вещество, которое обладает наибольшим сродством к последним. Стало быть, такое вещество «защищает» от химических изменений другие вещества, присутствующие в растворе. Подобное защитное действие в поле ультразвуковых волн проявил ряд изученных нами веществ (Эльпинер и Кац, 1951). Защитным действием обладают, согласно нашим данным, и такие вещества, которые препятствуют переходу водных молекул в кавитационные полости. При этом исключается возможность образования свободных радикалов и атомарного водорода — продуктов расщепления ионизированных частиц воды.

Представления о непрямом химическом действии ультразвука и о появлении в озвучиваемой жидкости продуктов разложения воды позволяют не только объяснить целый ряд химических реакций, протекающих под влиянием этого физического агента. Образование следов перекиси водорода действительно наблюдается в озвучиваемых водных растворах, но, повидимому, данное вещество не является единственным образованным вновь соединением, способным к химическим реакциям. Образование перекиси водорода является, вероятнее всего, результатом рекомбинации свободных радикалов — продуктов расщепления воды: $OH + OH \rightleftarrows H_2O_2$, $HO_2 + H \rightleftarrows H_2O_2$ и т. д. Следует считать, что перекись водорода занимает лишь незначительное место среди образующихся реакционноспособных продуктов распада молекул воды. Указанием на возможность активного действия всех этих продуктов на вирусы, ферменты и токсины служат приведенные в нашем обзоре многочисленные факты защитного действия белков и других посторонних примесей. Однако в нашем распоряжении нет экспериментальных данных, которые отвергали бы возможность механических разрывов микроорганизмов и других биологических объектов. Не решен вопрос, возникает ли кавитация внутри микроорганизма или кавитационные полости образуются только в окружающей среде. Не лишено вероятности и комбинированное химическое и физическое действие ультразвуковых волн, т. е. механические разрывы, сочетающиеся с химическими процессами, протекающими под влиянием этого физического агента.

От решения этих вопросов зависит более эффективное использование ультразвуковых волн в биологии, в частности в микробиологии.

Получено 17.X.1951 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бажулин П. Поглощение ультраакустических волн в жидкостях. Журн. эксп. и теор. физики, 8, 457, 1938.
2. Блинкин С. А., Гордина А. П., Полоцкий И. Т. и Уразовский С. С. О бактерицидном действии ультразвука на дизентерийные микроорганизмы. Журн. микроб., эпидем. и иммуноб., 5, 72, 1946.
3. Бреслер С. Е. О механизме окислительного действия ультразвука. Журн. физ. хим., 14, 309, 1940.
4. Верещинский И. В. Радиационная химия. Успехи химии, т. XX, вып. 3, 288, 1951

5. Воеводский В. В. и Кондратьев В. Н. Радикалы в цепных реакциях. Успехи химии, **19**, 673, 1950.
6. Доливо-Добровольский Г. Б. и Кузнецов С. И. Бактерицидное действие ультразвуковых колебаний (УЗК) в воде. Гигиена и санитария, **7**, 1, 1943.
7. Збарский И. Б., Эльпинер И. Е. и Харламова В. Н. Деполимеризация дезоксирибонуклеината натрия. ДАН СССР, **77**, 439, 1951.
8. Истомина О. и Островский Е. Влияние ультразвука на развитие растений. Журн. техн. физики, **6**, 2065, 1936.
9. Кольтгоф И. М. и Лингейн Дж. Полярография. ГНТИ. Ленинград, 1948.
10. Левшин В. Л. и Ржевкин С. Н. К вопросу о механике свечения жидкостей при воздействии ультразвука. ДАН СССР, **16**, 407, 1937.
11. Мандельштам Л. И. и Леонтович М. А. К теории поглощения звука в жидкостях. Журн. эксп. и теор. физики, **7**, 438, 1937.
12. Натосон Г. Л. О величине электрического поля в полостях, образуемых при кавитации жидкости ультразвуком. ДАН СССР, **59**, 83. 1948.
13. Полоцкий И. Т. Определение NO_2', NO_3' и H_2O_2 в воде, экспонированной в ультразвуковом поле. Журн. общей химии, **17**, 649, 1947.
14. Ржевкин С. Н. Ультразвуковые волны и их биологическое воздействие. Сб. трудов Ин-та рентгенол. и радиол., **2**, 181, 1936.
15. Ржевкин С. Н. К вопросу о волновом поле пьезокварцевого излучателя. ДАН СССР, **6**, 5, 275, 1937.
16. Розенберг Л. Д. Звуковые фокусирующие системы. Изд. АН СССР, 1949.
17. Соловьева Л. Р. Химическое действие ультразвука. Журн. техн. физики, VI, 2059, 1936.
18. Талмуд Д. Л. Химическая морфология белковых макромолекул и некоторые их биологические функции. Коллоидн. журн., **8**, 247, 1946.
19. Уразовский С. С. и Полоцкий И. Т. Ультразвук и вызываемые им эффекты. Успехи химии, **8**, 885, 1940.
20. Френкель Я. И. Об электрических явлениях, связанных с кавитацией, обусловленной ультразвуковыми колебаниями в жидкости. Журн. физ. хим., **14**, 305, 1940.
21. Шейнкер А. П. и Эльпинер И. Е. Токсин коклюшной палочки. Журн. микроб., эпид. и иммуноб., **5**, 69, 1949.
22. Эльпинер И. Е. Полярографический анализ в биологии и медицине. Успехи совр. биологии, **23**, 161, 1947.
23. Эльпинер И. Е. Ультразвуковые волны в биологии и медицине. Успехи совр. биологии, **25**, 161, 1948.
24. Эльпинер И. Е. Новое в учении о биологическом действии ультразвуковых волн. Успехи совр. биологии, **30**, 113, 1950.
25. Эльпинер И. Е. О механизме биологического действия ультразвуковых волн. Бюлл. эксп. биол. и мед., **9**, 208. 1950.
26. Эльпинер И. Е., Блюменфельд Л. А. и Красовицкая С. Э. Распад порфиринового ядра под действием ультразвуковых волн. ДАН, **79**, 495, 1951.
27. Эльпинер И. Е., Збарский И. Б. и Харламова В. Н. Действие ультразвуковых волн на аминокислоты. ДАН СССР, **73**, 1255, 1950.
28. Эльпинер И. Е. и Кац Ц. Б. О механизме физико-химического действия ультразвуковых волн. Сб. трудов комиссии по акустике АН СССР, № 7, 1951.
29. Эльпинер И. Е. и Колесникова М. Ф. О процессах окисления и восстановления иода в поле ультразвуковых волн. ДАН СССР, **75**, 837, 1950.
30. Эльпинер И. Е. и Шейнкер А. П. Получение ультразвуковыми волнами эндотоксинов (культуры палочки коклюша). Бюлл. эксп. биол. и мед., **7**, 51, 1946.
31. Beckwith T. D. a. Weaver C. E. Some energy as a lethal agent for yeast and bacteria. J. Bact., **32**, 361, 1936.
32. Brohult S. Spliting of the haemocyanian molecul by ultrasonic waves. Nature, **140**, 805, 1937.
33. French C. S. The pigment-protein compound in photosynthetic bacteria. I. The extraction and properties of photosynthin. J. Gen. Physiol., **23**, 469, 1940.
34. Grabar P. et Royer M. La désintégration des microbes par les ultrasons. Ann. Inst. Pasteur, **71**, 154, 1945.
35. Harme D. The effect of US-waves upon Klebsiella pneumoniae, Saccharomyces cerevisiae, Miyagavanella Felis and Influenz virus. J. Bact., **57**, 279, 1949.
36. Harvey E. N. a. Loomis A. L. The destruction of luminous Bacteria by high frequency sound waves. J. Bact., **17**, 373, 1929.
37. Harvey E. N. a. Loomis A. L. High speed photomicrography on living cells, subjected to supersonic vibrations. J. Gen. Physiol., **15**, 147, 1932.
38. Kasahara M., Ogata S., Kambayashi H. u. Ioshida K. Über den Einfluss der Ultraschallwellen auf das Poliomyelitis virus in vitro. Monatschr. Kinderheilkunde, **73**, 79, 1938.
39. Kasahara M., Nan S. u. Ogata S. Ueber den Einfluss der Ultraschallwellen auf das Encephalitis virus. Klin. Wochenschr., **19**, 817, 1940.
40. Kasahara M. u, Takaaki I. Ueber den Einfluss der ultraakustischen Schallwellen auf die Milchenzyme. Z. Kinderheilkunde, **59**, 462, 1938.
41. Kasahara M. u. Toshiyuki T. Ueber den Einfluss der ultraakustischen Schallwellen auf das Diphterietoxin. Monatsschr. Kinderheilkunde, **72**, 8, 1938.

42. Kocholaty W., Smith L. a. Weil L. Studies on the endoenzymes, particularly the peptidases, of Clostridium histolyticum. Biochem. J., **32**, 10, 1691, 1938.
43. Kress F. Ueber die Wirkung von Ultraschall auf Tuberkulosekeime vom Typus humanus und die Möglichkeit einer Schutzimpfung gegen die Tuberkulose. Wiener Klin. Wochenschr., **37**, 597, 1948.
44. Laporte R. et Loiseleur I. Sur le degré de réisistance des souches de bacilles tuberculeux à la désintégration par les ultrasons. Ann. Inst. Pasteur. **71**, 375, 1945.
45. Oster G. Studies on the sonic treatment of tobacco mosaic virus. J. Gen. Physiol., **31**, 1, 89, 1947.
46. Rivers Th. M., Smadel J. E. and Chambers Z. A. Effect of intense sonic vibrations on elementary bodies of vaccinia. J. Exp. Med., **65**, 677, 1937.
47. Scherp H. W. a. Chambers L. A. Resistance of the viruses of poliomyelitis, human Influenza and swine influenza to intense vibration. Proc. Soc. Exp. Biol. and Med., **35**, 495, 1936.
48. Schoenaers F. Contribution à l'étude de l'action des ultrasons sur les hématies. C. R. Soc. Biol., **142**, 180, 1948.
49. Schoenaers F. Contribution à l'étude de l'action des ultrasons sur les trypanosomes. C. R. Soc. Biol., **142**, 182, 1948.
50. Sibuya H. Beeinflussung der physikalischen Eigenschaften des Blutes sowie der Blutkatalase durch ultraakustische Schallwellen. Tohoku J. Exp. Med., **30**, 181, 1936.
51. Stumpf P. K. a. Green D. E. The l-amino acid oxidase of Proteus vulgaris. J. Biol. Chem., **153**, 387, 1944.
52. Stumpf P. K., Green D. E. a. Smith T. W. Ultrasonic desintegration as a method of extracting bacterial enzymes. J. Bact., **51**, 487, 1946.
53. Takahashi W. N. and Christensen R. I. The virucidal action of high frequency sound radiation. Science, **79**, 415, 1934.
54. Weltmann G. u. Woeber K. U. Ueber den Einfluss der U. S. Wellen auf Tuberkebazillen in vitro und in Gewebe, Der Ultraschall in der Medizin, S. 233, 1930.

ВЫДАЮЩИЙСЯ РУССКИЙ МИКОЛОГ И МИКРОБИОЛОГ ИВАН ЛЬВОВИЧ СЕРБИНОВ

(К 25-летию со дня смерти[1])

М. В. Горленко

В конце 1950 г. исполнилось 25 лет со дня смерти Ивана Львовича Сербинова, выдающегося русского миколога и микробиолога.

И. Л. Сербинов родился 12 июня 1872 г., скончался 26 октября 1925 г. Его учителями были выдающиеся ботаники того времени — А. Н. Бекетов, Х. Я. Гоби, М. С. Воронин, В. К. Варлих.

И. Л. Сербинов окончил Петербургский университет в 1898 г. и в том же университете в 1899 г. начал работать хранителем Ботанического кабинета. В 1900 г. он поступил по совместительству ассистентом на кафедру ботаники Военно-медицинской академии, а в 1901 г.— в Женский медицинский институт.

В 1902 г. он перешел на работу в Никитский ботанический сад. В 1905 г. снова возвратился в Петербург, работал там в ряде учреждений, в том числе и в Ботаническом саду, откуда в 1916 г. переехал в Одессу, где и остался до конца своих дней[2].

Научная деятельность И. Л. Сербинова отличается исключительной разносторонностью. Он работал по микологии, микробиологии, фитопатологии; занимался изучением болезней пчел и некоторыми другими вопросами пчеловодства, болезнями рыб. Особенно много он сделал в области изучения бактериальных болезней растений. В этой области он является первым исследователем в России, который систематически начал изучать бактериальные болезни растений.

Значение работ того или иного ученого проверяется временем. Некоторые работы живут недолго, другие, наоборот, многие годы оказывают влияние на развитие науки. Кроме того, часто те или иные результаты работ или высказывания ученого не всегда бывают поняты или осознаны современниками, и только спустя много лет раскрывается их подлинное значение. Укажем для примера на открытие Д. И. Ивановским фильтрующихся вирусов в 1892 г. В свое время на это открытие не было обращено должного внимания, и лишь много лет спустя оказалось возможным осознать его громадную ценность. Как известно, это открытие дало толчок к развитию новой отрасли науки.

Наконец, некоторые высказывания и итоги исследований в свете современных данных могут получить иное, более правильное освещение. С этих точек зрения нам и хотелось разобрать научное наследие Ивана Львовича Сербинова.

И. Л. Сербинов начал свои исследования с изучения грибов. Одна из первых его работ (1899) была посвящена истории развития хитридиевого гриба, паразитирующего на водорослях. Для этого гриба оказалось необходимым установить новый род и вид (Sporophlyctis rostrata Serbinov) [4]. Этот род и вид сохранен в современных определителях

---

[1] Доложено на кафедре низших растений Московского государственного университета 20 апреля 1951 г.

[2] Более подробно жизненный путь И. Л. Сербинова см. в некрологе, написанном А. С. Бондарцевым [1]. Там же дается список работ И. Л. Сербинова.

грибов [12]. Впоследствии И. Л. Сербинов много занимался изучением хитридиевых грибов и написал о них монографию, защищенную им в качестве магистерской диссертации (1907).

Насколько серьезные задачи ставил он перед собой, приступая к созданию этой монографии, видно из следующих его фраз в предисловии к этой книге: «Желая создать монографию хитридиевых грибов, я старался собрать возможно больший фактический материал, предпринял новый самостоятельный просмотр этих грибов, отыскивая их в наших пресных водах, анализируя возможно детально. При этом я открыл ряд новых форм, весьма интересных и важных для изучения сравнительной морфологии Phycomycetes вообще» [6].

Ячевский (1933) считал, что эта монография является самым крупным вкладом в изучение хитридиевых грибов.

Комарницкий пишет, что мнение Сербинова о филогенетической неоднородности хитридиевых разделяется и в настоящее время некоторыми крупными микологами [2].

Изучая грибы, И. Л. Сербинов особенно большое внимание уделял тем из них, которые вызывают болезни растений. Его работы по болезням табачных сеянцев включены и в современные сводки по болезням табака.

Наиболее плодотворно И. Л. Сербинов работал по изучению бактериальных болезней растений. Его с полным правом можно назвать основоположником этой отрасли фитопатологии.

Первая работа И. Л. Сербинова по бактериозам растений была опубликована в 1913 г. С тех пор исследования по этой группе болезней растений публиковались им до конца жизни, а часть их была опубликована посмертно. Им разработана методика изучения бактериозов растений; описан и изучен ряд бактериальных заболеваний (бактериоз картофеля и свеклы, некроз плодовых деревьев, гуммоз сорго, рак плодовых деревьев и ряд других); открыты новые виды бактерий, вызывающие болезни растений (Bac. Omelianskii Serb., вызывающий гуммоз сорго и Bac. beticoli Serb., поражающий корни свеклы). Последний вид переименован Потебней в Bact. Serbinovi (Serb.) A. Pot.

Пожалуй, самое интересное в работах И. Л. Сербинова, относящихся к бактериозам,— это учение о смешанной инфекции.

Ячевский так писал об этих работах: «Роль бактерий в болезнях растений очень велика и во многих случаях они являются усилителями патологических явлений, вызываемых паразитными грибами, вступая с ними в некоторый симбиоз. Это крупная заслуга И. Л., что он первый не только в России оттенил это обстоятельство и тем самым дал новое направление исследованиям» [11].

Впервые это было установлено И. Л. Сербиновым на винограде для мильдью и бактерий, вызывающих брожение вина. Он писал, что ему «впервые в Европе удалось обнаружить постоянный симбиоз в „мильдьюзных“ виноградных листьях грибка Plasmopara viticola и микроба Micrococcus acidovorum» [9].

Позднее, развивая те же положения, И. Л. Сербинов писал, что «массовое развитие грибов Alternaria и Macrosporium происходит от предварительного сильного развития бактерий, которые подготовляют почву для названных грибов».

Идеи И. Л. Сербинова о смешанной инфекции в настоящее время очень широко развиваются рядом советских фитопатологов. Недавно этот вопрос глубоко исследовал Савинский, изучая загнивание и увядание кок-сагыза [3].

Следующей обширной группой работ И. Л. Сербинова являются исследования по болезням пчел и пчеловодству вообще. Известный советский специалист по болезням пчел Полтев на наш вопрос о том, насколько глубокий след оставили работы Сербинова в пчеловодстве,

писал нам: «...могу отметить, что след, оставленный И. Л. Сербиновым в пчеловодстве, глубокий». И далее:

«Его книга „Гнилец пчел и борьба с ним" не утратила своего значения и по настоящее время. Она на протяжении 20 лет была единственным серьезным руководством. Некоторые вопросы, поставленные им на разрешение тогда, свежи и в настоящее время. Он прекрасно знал литературу того времени и смотрел далеко вперед. Он также хорошо знал и практику пчеловодства.

В его статье к этиологии заразного поноса у пчел, вызываемого Bact. coli apium и Proteus alveicola, напечатанной в «Журнале микробиологии», 1915, т. II, впервые, за 7—8 лет до зарубежных исследований, излагаются картины заболеваний, которые позднее были описаны как паратиф и септицемия пчел». (Письмо к автору от 29.III. 1951 г.).

Сербинов ставил вопрос о получении болезнестойких пчел, что является актуальным и на сегодняшний день, путем отбора устойчивого потомства к искусственному заражению. «Этот путь с мичуринских позиций является плодотворным, и в настоящее время мы его используем для получения болезнестойких пчел»,— писал нам Полтев.

Он ставил вопрос об открытии государственных научных учреждений по изучению болезней пчел, что осуществилось только в наше, советское время.

Большое влияние на развитие пчеловодства оказала книга Сербинова и Пикеля [10]. Книга эта не потеряла своего значения и в настоящее время.

Вряд ли к этому письму следует что-либо прибавить. Как видно, И. Л. Сербинов смотрел далеко вперед, еще в то время (1915) высказывая вполне современные нам взгляды.

Большое внимание уделял И. Л. Сербинов вопросам популяризации науки среди широких народных масс. Им писались популярные статьи по болезням пчел, по фитопатологии и по общим вопросам тогда еще зарождающейся сельскохозяйственной микробиологии [7, 8].

Полтев в письме к нам пишет, что И. Л. Сербинов оказал огромное влияние на подготовку многих выпускников студентов медицинских и ветеринарных институтов, которые пользовались (и пользуются теперь) прекрасным руководством, вышедшим под редакцией Златогорова «Учение о микроорганизмах», теоретическое и практическое руководство для учащихся, врачей и ветеринарных врачей, Петроград.

В этом руководстве Сербиновым прекрасно написана часть 1. «Общая микробиология. 277 стр. с рисунками и цветными таблицами».

Дипломная работа И. Л. Сербинова была посвящена физиологии гриба Peziza macropus [5]. Он всегда считал необходимым изучение физиологии грибов. В настоящее время совершенно очевидно, какое большое значение имеет изучение физиологии этих организмов для понимания иммунитета растений, образования антибиотиков, образования микоризы и многих других вопросов.

Когда-то Ячевский в некрологе о Сербинове писал: «Жизнь И. Л. не прошла бесследно для науки». И это действительно так.

Прошло двадцать пять лет со дня его смерти. Имя И. Л. Сербинова не забыто. Его работами до сих пор пользуются ученые, практики, учащиеся. Его идеи получают дальнейшее развитие.

Получено 28.VIII.1951 г.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бондарцев А. С. Иван Львович Сербинов. Болезни растений, № 4, 149, 1925.
2. Грушевой Е. Болезни табака и система мероприятий по борьбе с ними. Сельхозгиз, 1950.
3. Комарницкий Н. А. Морфология растений. В книге «Очерки по истории русской ботаники». Изд. Моск. об-ва испыт. природы, 1947.

4. Савинский П. И. Загнивание и увядание кок-сагыза и обоснование мер борьбы с ним. Автореферат диссертации, Киев, 1951.
5. Сербинов И. Л. История развития хитридиевого грибка Sporophlyctis rostrata nov. gen. et nov. sp. Имп. СПб. об-ва естествоиспытателей, XXX, вып. 1, 1899.
6. Сербинов И. Л. Об отложении запасного углевода в аскусах гриба Peziza macropus. 1900.
7. Сербинов И. Л. Организация и развитие некоторых грибов Chytridineae. Ботанич. записки СПб. Ботанич. сада, XXIV, 1907.
8. Сербинов И. Л. Гнилец пчел и борьба с ним. СПб., 1910.
9. Сербинов И. Л. Грибки и бактерии в сельском хозяйстве. Петроград, 1915.
10. Сербинов И. Л. Micrococcus staphylophagus, его расы и патогенез. Сб., посвященный В. Е. Таирову, стр. 14, Одесса, 1925.
11. Сербинов И. Л. и Пикель В. О. Медоносные растения, как основа промышленного пчеловодства, СПб., 1910.
12. Ячевский А. А. Профессор И. Л. Сербинов. Защита растений, 1925.
13. Ячевский А. А. и Ячевский П. А. Определитель грибов, I, 32, Сельхозгиз, 1931.
14. Ячевский А. А. Основа микологии. Сельхозгиз. 1933.

РЕФЕРАТЫ

ОБЩАЯ МИКРОБИОЛОГИЯ, МОРФОЛОГИЯ, ФИЗИОЛОГИЯ, БИОХИМИЯ

Zelitch Y. **Simultaneous use of molecular nitrogen and ammonia by Clostridium Pasteurianum.** (Одновременное усвоение молекулярного и аммонийного азота Clostridium Pasteurianum). Proc. Nat. Acad. Sc. (USA), v. 37, pp. 559—565, 1951.

Авторы установили, что первичным продуктом азотфиксации у Cl. Pasteurianum является аммиак. Дальнейшие исследования обнаружили, что этот организм фиксирует N_2 в присутствии NH_4, при интенсивном потреблении последнего. Для более детального изучения этого явления 4 л культуры Cl. Pasteurianum в момент логарифмической фазы роста были разлиты в 3 колбы.

В каждую колбу добавлялось по 20γ $N^{15}H_4$. Через первую колбу пропускался ток N_2; через вторую — H_2; через третью — He. Периодически из колб брались пробы, которые тут же центрифугировались и в аммиаке, отогнанном из центрифугата, определялось содержание N^{15}. Оказалось, что метка N^{15}, разводится только в культуре, через которую пропускался ток N_2, что свидетельствует о синтезе NH_4 (из N_2), разводящего метку. Общее содержание NH_4 в среднем при этом возрастало. Анализ в этих же опытах азота бактериальных тел на содержание N^{15} показал, что скорость ассимиляции клетками $N^{15}H_2$, больше в атмосфере H_2 и He и меньше в атмосфере N_2, что также объясняется фиксацией N_2, разводящего метку.

В дальнейших опытах было установлено, что культуры Cl. Pasteurianum, выращенные в присутствии NH_4 как единственного источника азота, N_2 не фиксируют. Это указывает на адаптивный характер способности к азотфиксации у данного организма.

Ю. Сорокин

Fogg G. E. **Studies on nitrogen fixation by blue-green algae. II. Nitrogen fixation by Mastigocladus laminosus Cohn.** (Изучение фиксации азота синезелеными водорослями. II. Фиксация азота Mastigocladus laminosus). J. Exp. Botany, v. 2, pp. 117—120, 1951.

Способность к азотфиксации среди представителей синезеленых водорослей признавалась ранее только за семейством Nostocaceae. Автор установил, что этой способностью обладает Mastigocladus laminosus — цианова водоросль из сем. Stigonemataceae. Чистая культура этой водоросли была получена путем облучения ультрафиолетовыми лучами культуры M. laminosus, выделенной из одной нити. Чистота культуры тщательно контролировалась высевом ее на различные бактериальные среды. M. laminosus в чистой культуре на среде без азота росла столь же интенсивно, как и при добавлении 0,2 г/л KNO_3.

Для уточнения чистая культура водоросли была выращена на безазотной среде в склянках, через которые продувалась смесь воздуха и 5%-ной углекислоты, тщательно очищенная от следов азота. Контролем служила одна из незараженных склянок. Анализы содержания азота в начале и в конце опыта показали: M. laminosus фиксирует 2,48 мг азота на 100 мл культуры за 15 дней инкубации.

Ю. Сорокин

Sakamura T. and Maeda K. **On the assimilation of nitrate nitrogen by Hansenula anomala.** (Об ассимиляции нитратного азота дрожжами Hansenula anomala). J. of the Faculty of Sci. Hokkaido Univers. Japan. Ser. V, v. VII, No. 2, pp. 79—98, 1950.

Исследовалось влияние молибдена на процесс ассимиляции нитратного азота у пленчатых дрожжей Hansenula anomala. В опыте применялась среда следующего состава: KNO_3 — 6,31 г; KH_2PO_4 — 2,5 г; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ — 1,25 г; глюкоза — 45 г; дестиллированная вода — 1 л. Микроэлементы (Fe, Zn, Cu, Mn) вносились в виде сульфатов в концентрации 2×10^{-6} M; молибден давался в виде молибдата аммония в концентрации 2×10^{-6} M.

В присутствии молибдена восстановление как нитратов, так и нитритов протекает медленнее, нежели без него, причем в культуре, содержащей молибден, имеет место большее накопление биомассы дрожжей. По мнению авторов, восстановление нитра-

тов происходит за счет окисления глюкозы, торможение же процесса восстановления нитратов приводит к повышению экономического коэффициента использования глюкозы дрожжами, а отсюда и к лучшему их росту. Молибден можно рассматривать как регулятор, ограничивающий расход свободной энергии на восстановление нитратов. Это подтверждается опытами, в которых в качестве источника азота брались соли аммония. Присутствие молибдена в такой среде не влияет на метаболизм Hansenula anomala.

По изменению скорости обесцвечивания метиленовой синей в культурной жидкости установлено, что дегидрогеназа Hansenula anomala более активна при отсутствии молибдена в среде. Нитрат и нитритредуктазы не подвержены влиянию молибдена. По сравнению с анаэробными условиями аэробиоз резко усиливает восстановление нитратов, особенно в отсутствие молибдена. Увеличение скорости восстановления нитратов и нитритов в аэробных условиях объясняется какой-то окислительной реакцией, происходящей на поздних стадиях азотного метаболизма, а именно после синтеза аминокислот. Такой окислительной реакцией авторы считают реакцию, связанную с образованием амидов, так как в среде без молибдена Hansenula anomala накапливает большее количество аминного азота и образование амидов требует у ряда организмов наличия кислорода.

Наблюдения над действием некоторых ядов на процесс восстановления нитратов показали, что уретан тормозит восстановление нитратов, отравляя дегидрогеназную систему, моноиодуксусная кислота задерживает восстановление нитратов до нитритов, хотя не оказывает никакого влияния на дальнейшее восстановление, а цианиды отравляют и нитрат- и нитритредуктазы.

Ю. Карасевич

Di-Carlo C. J., Schultz A. S., McManus D. K. **The assimilation of nucleic acid derivates and related compounds by yeasts.** (Ассимиляция дериватов нуклеиновых кислот и исходных соединений дрожжами). J. Biol. Chem., v. 189, pp. 151—156, 1951.

Авторы изучали характер использования дрожжами азота органических оснований, когда они являются единственным источником азота в среде. Для исследования были взяты Sacch. cerevisiae и Torula utilis. Дрожжи выращивались при 30° в качалках. Степень использования азота определялась по накоплению биомассы через 16, 24, 40 и 60 часов. Исследуемые соединения вносились в среду из расчета 1 мг азота на 1 мл. Дрожжи Sacch. cerevisiae способны использовать для роста аденин, гуанин, цитозин и аллантоин. Когда аденин является единственным источником азота, S. cerevisiae ассимилирует один атом азота, в смеси же с сульфатом аммония используется два атома азота. У гуанина и цитозина используется всегда только один атом азота. Азот аллантоина используется целиком. Авторы считают, что S. cerevisiae может использовать только свободные аминогруппы гуанина и цитозина, которые отщепляются под действием ферментов гуанин- и цитозиндезаминазы. Это подтверждается неспособностью S. cerevisiae расти на ксантине и урациле — продуктах дезаминирования гуанина и цитозина. Отсутствие у Sacch. cerevisiae уриказы подтверждается неспособностью усваивать ксантин и мочевую кислоту, при одновременном использовании аллантоина. Дрожжи Torula utilis хорошо используют аденин, аденозин, гуанин, цитозин, урацил, ксантин, ксантозин, гипоксантин, мочевую кислоту, аллантоин, аденинтиометилпентозид; при этом происходит разрыв колец и использование от 2 до 5 атомов азота. Хуже используется адениловая кислота. Испытанные дрожжи не усваивают пиримидин-нуклеозиды и нуклеотиды, что указывает на отсутствие у них пиримидин-нуклеозидаз и пиримидин-нуклеотид-дезаминаз.

Ю. Карасевич

De Ley J. **Le métabolisme de l'acide formique et de l'hydrogène moléculaire chez Escherichia coli, pauvre en azote.** (Метаболизм муравьиной кислоты и молекулярного водорода у Escherichia coli, обедненной азотом). Bull. Soc. Chim. Biol., XXXIII, pp. 505—507, 1951.

Многие исследователи ставят под сомнение существование фермента гидрогенлиазы муравьиной кислоты, считая, что разложение муравьиной кислоты с образованием CO_2 и H_2 проводят дегидрогеназа и гидрогеназа. Исходя из наблюдений о неспособности E. coli образовывать H_2 и CO_2 из муравьиной кислоты при недостаточном содержании азота в среде и уменьшенном количестве азота в клетках, автор решил проверить, в какой степени изменяются при этом ферментные системы, ответственные за разложение муравьиной кислоты. Если ни дегидрогеназа, ни гидрогеназа не исчезают, значит, прекращение выделения водорода связано с изменением гидрогенлиазы. Если же один из этих ферментов исчезает в такой же степени, в какой ослабляется

образование водорода, существование гидрогенлиазы становится ненужным. Бактерии культивировались на средах, где содержание сульфата аммония варьировало от 6 мг до 1600 мг на литр. Количество выделенного водорода измерялось в аппарате Варбурга. Активность дегидрогеназы и гидрогеназы измерялась по методу Тунберга. В результате опытов установлено, что активность гидрогеназы и скорость образования водорода не изменяются до тех пор, пока содержание азота в клетках не упадет до 12,3% (на сухой вес). Затем наблюдается быстрое падение активности гидрогеназы и уменьшение скорости образования водорода. При содержании азота, равном 10,7%, обе величины падают до нуля. Автор делает вывод о непосредственной роли гидрогеназы в прекращении образования водорода из муравьиной кислоты при недостатке азота. Этим опровергается мнение Стефансон и Стикланда о существовании гидрогенлиазы муравьиной кислоты.

Ю. Карасевич

Kaufmann I., Toussaint P., présentée par M. R. Combes. **Un nouveau germe fixateur de l'azote atmosphérique Azotobacter lacticogenes.** (Новый вид фиксатора атмосферного азота Azotobacter lacticogenes) C. R. Acad. Sci., v. 233, pp. 710—711, 1951.

Авторы сообщают, что они выделили из почвы Слонового Берега (Африка) новый вид Azotobacter. Краткая его характеристика сводится к следующему: это неподвижные кокки диаметром 2 . В клетках молодой культуры характерно наличие 2—4 периферийно расположенных гранул. Грануляция особенно хорошо заметна при покраске эритрозином. На силикагеле колонии белые, сухие, складчатые; на агаре белые, выпуклые, гладкие. При старении колонии становятся коричневато-розоватыми. Температурный оптимум развития 28—30°. Оптимальный pH = 5,5 (для Az. chroococcum и Az. vinelandii оптимальный pH = 7,5). На среде Виноградского с глюкозой Az. lacticogenes образует молочную кислоту, в то время как Az. chroococcum и Az. vinelandii потребляют глюкозу до конца. В качестве источника углерода используются: глюкоза, галактоза, маннит, сахароза, мальтоза, ксилоза, арабиноза, лактоза, растворимый крахмал, глицерин. Слабее используется этиловый спирт. В противоположность Az. chroococcum и Az. vinelandii, Az. lacticogenes не усваивает цитрата, лактата, ацетата и пропионата натрия. Коэффициент фиксации азота (1 мг азота на 100 мг потребленной глюкозы) равен 0,5 на среде с 1% глюкозы и 1,4 на среде с 0,1% глюкозы.

Ю. Карасевич

Sisler F. D. and ZoBell C. E. **Hydrogen utilization by some marine sulfate-reducing bacteria.** (Использование водорода некоторыми морскими сульфатвосстанавливающими бактериями). J. Bact., v. 62, No. 1, pp. 117—129, 1951.

В 1950 г. авторы выделили из морских отложений чистые культуры бактерий Desulfovibrio, способные к автотрофному существованию на минеральной среде с единственным источником энергии — молекулярным водородом. Настоящая работа посвящена изучению физиологии некоторых культур Desulfovibrio и активности их гидрогеназы при разных условиях.

Гетеротрофные десульфуризаторы выращивались на полутвердой агаровой среде (молочнокислый кальций — 3,5 г, пептон-нео — 1 г, дрожжевой экстракт — 1 г, аскорбиновая кислота — 0,1 г, $MgSO_4$ — 0,2 г, калий фосфорнокислый двуосновной — 0,2 г, железо-аммоний сернокислое — 0,1 г, агар — 3 г, морская вода — 750 г, дестиллированная вода — 250 г) при температуре 28° в завинчивающихся сосудах, в которых находились перевернутые пробирки, наполненные H_2. Аскорбиновая кислота поддерживала восстановительные условия, необходимые для начала роста десульфуризаторов.

Для культивирования в тех же условиях автотрофов применялась неорганическая среда с Na_2S (pH = 7,5). Остаточный газ анализировался в усовершенствованном аппарате Орса или масс-спектроскопическим методом.

В 33 культурах (из 39) гидрогеназа была обнаружена через 9 недель, в отдельных же культурах только через 20—24 недели.

11 культур размножались и потребляли H_2 на неорганической среде. Уменьшение содержания CO_2 в среде и увеличение количества клеток демонстрируют способность чистых культур десульфуризаторов восстанавливать CO_2. Для процесса восстановления сульфатов «покоящимися» клетками по уравнению $H_2SO_4 + 4H_2 \rightarrow H_2S + 4H_2O$ отношение потребленного H_2 к образовавшемуся H_2S приближается к теоретической величине 4. Однако это отношение равняется 5—10 в культурах, растущих на неорганической среде. Полученные опытные данные показывают, что отношение $\frac{H_2 \quad H_2^s}{CO_2}$.

(где H_2 — общее количество потребленного H_2, а H_2^s — количество H_2, пошедшего на образование H_2S) больше, чем требовалось бы по уравнению $CO_2 + 2H_2 \rightarrow (CH_2O) + H_2O$. Следовательно, можно предполагать образование каких-то других продуктов, возможно жиров и углеводов. В качестве продуктов автотрофного метаболизма в шести культурах обнаружено незначительное количество метана. За 50 дней при 32° в 15 л минеральной среды потреблено H_2 — 13,416 см³, образовано H_2 — 1,032 см³ и восстановлено 4,92 г сульфатов. Отношение $\frac{H_2}{H_2^s}$ показывает, что наряду с сульфатами восстанавливались еще какие-то продукты. Действительно, удалось извлечь 0,72 г веществ, растворимых в CCl_4, которые по спектроскопическому анализу принадлежат к парафиновым или нафтеновым углеводородам, а по внешнему виду похожи на нефтяную смазку. В присутствии сульфитов или тиосульфатов культуры Desulfovibrio потребляли H_2 более интенсивно, чем в присутствии сульфатов. Масс-спектроскопические анализы показали, что некоторые из потребляющих водород видов Desulfovibrio способны фиксировать азот. Способность выделенных из морских отложений десульфуризаторов использовать H_2 может, по мнению авторов, объяснить частое отсутствие H_2 в природных газах.

Л. Оснищкая

Jensen H. L. **Nitrification of oxime compounds by heterotrophic bacteria.** (Нитрификация оксимных соединений гетеротрофными бактериями). J. Gen. Microb., v. 5. pp. 360—368, 1951.

Гидроксиламин и его альдегидные и кетонные производные — оксимы — возникают при некоторых микробиологических процессах. Свободный гидроксиламин токсичен и не используется микроорганизмами даже при низких концентрациях. Возможность использования этого класса соединений мало изучена. Для выявления культур микроорганизмов, способных использовать оксимы, применялась неорганическая среда (K_2HPO_4 — 0,05%, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ — 0,02%, NaCl — 0,05%, $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ следы, водопроводная вода), к которой добавлялся оксим пировиноградной кислоты в таком количестве, чтобы конечная концентрация его в среде равнялась 70 μг азота-оксима в 1 см³. Материалом для заражения служила почва. Культуры выдерживались при 25° в течение недели, после чего делались высевы на ту же среду с агаром в чашки. Из выросших на чашках колоний были выделены три чистые культуры, способные нитрифицировать на среде с оксимом. Первая (вначале — длинные ветвящиеся палочки, позднее — короткие палочки и кокки) была идентифицирована как Nocardia corallina. Вторая (палочка) — приближалась к Alcaligenes metalcaligenes. Третья (выделенная из обогащенной оксимами почвы) была похожа на Agrobacterium radiobacter. Ни один из этих организмов не образовывал нитритов на среде с $(NH_4)_2SO_4$ или с аланином и аспарагином.

В результате проведенных опытов оказалось, что N. corallina, Alcaligenes spp. и Agrobacterium spp. способны образовывать нитриты из оксима пировиноградной кислоты (α— оксиминопропионовая кислота). N. corallina переводит в нитраты до 64% азота оксима, Alcaligenes — до 43% и Agrobacterium — до 36%.

Глюкоза подавляет нитрификацию. Образование нитритов протекает параллельно с размножением клеток.

Alcaligenes spp. легко нитрифицируют оксим щавелевоуксусной кислоты и слабо — оксим уксусной кислоты.

Образование нитритов из оксимов, по всей вероятности, не идентично окислению аммиака Nitrosomonas, а является гидролитическим процессом, который можно представить схематически уравнением: $RC(=NOH) + H_2O \rightarrow RCH_2 + HNO_2$. Нитрит является продуктом отхода, органический же радикал служит источником энергии.

Л. Оснищкая

КРИТИКА И БИБЛИОГРАФИЯ

Р. Валлери-Радо. **Жизнь Пастера.** Сокращенный перевод с последнего французского издания А. Н. Калитиевской, под ред. и с предисл. чл.-корр. АН СССР Н. А. Красильникова, 1950. Изд-во иностранной литературы, М., стр. 424, Ц. 20 руб.

Рецензируемая книга имеет свою историю и даже предисторию. Ей предшествовала другая книга того же автора «История одного ученого, написанная профаном», которая вышла в свет и неоднократно переиздавалась во Франции еще до смерти Пастера (в библиотеке имени В. И. Ленина имеется 13-е ее издание). На русский язык «История одного ученого» была переведена в 1889 г. с 10-го французского издания под редакцией д-ра Н. Ф. Гамалея с предисловием И. И. Мечникова, считавшего книгу интересной не только для широкой читающей публики, на которую рассчитывал Валлери-Радо, но и для специалистов.

После смерти Пастера автор увеличил объем книги, изменив несколько ее характер и пополнив рядом неопубликованных сведений о Пастере. Вышла книга под названием «Жизнь Пастера» первым изданием в 1900 г., в 1903 г. появилось уже 8-е, а в 1914 г.— 15-е издание. В дальнейшем книга переиздавалась почти каждые два-три года.

Перевод этой книги «Жизнь Пастера», безусловно, нужно приветствовать.

Эта книга является не только изложением биографии Пастера, но и историей науки, историей культуры. Она оптимистична, будит лучшие стремления человека и показывает, чем является передовая наука. Для нас, русских, имя Пастера особенно близко: вместе с Мечниковым он был творцом новой микробиологии, нового понимания этиологии болезней.

Книга охватывает всю жизнь Пастера — от рождения до смерти его. Данные биографические, сведения о личной жизни Пастера перемежаются с описаниями исторического фона и изложением учения Пастера. В книге сообщаются сведения о его детстве, отрочестве и юности и, что очень важно, обрисовывается та среда, в которой жил Пастер и которая формировала его характер. Книга представляет ценность еще в одном отношении. Мечников в предисловии к своей последней книге «Основатели современной медицины» указывает, что он писал эту книгу для тех молодых людей, которые зададут себе вопрос, куда направить свою деятельность, «в надежде возбудить интерес в молодом поколении к занятиям науками». Нам кажется, что и биография Пастера имеет огромное значение именно в этом отношении. Из следующих строк ясно видно воспитательное значение этой книги: «Пастер часто проводил свой отдых в библиотеке «Эколь нормаль». ...Жизнь замечательных людей, великих ученых, больших патриотов пробуждала в нем благородные чувства; ...«провести воскресный день в лабораториях Сорбонны, получить там практические указания знаменитого Барруеля, препаратора Дюма, разве можно,— говорил он,— лучше использовать воскресный день».

Детально описывается работа Пастера в области кристаллографии, химии, микробиологии, отмечается его тщательность при экспериментировании, настойчивость в достижении цели и способность критически относиться к получаемым результатам. Читатель с интересом следит, как Пастер доказывал, что кристаллы соли винной кислоты, в зависимости от положения граней на них, вращают плоскость поляризации влево или вправо и что соли виноградной кислоты, которая представляет собой смесь как лево-, так и правовращающих кристаллов, не вызывает вращения плоскости поляризации. Валлери-Радо подметил одну характерную черту Пастера: для него «наука» писалась только с большой буквы, хотя научная работа не была для Пастера свободна от терниев — здесь было и непонимание со стороны окружающих тех задач, которые ставил перед собой Пастер, и преследование его, и клевета, и отсутствие средств, заставлявшее его отдавать часть личных денег на оборудование лаборатории. В книге прекрасно показано, как работа Пастера-химика перерастает в работу Пастера-биолога и микробиолога.

С интересом следит читатель, как занятия по изучению брожения, временно прерванные переводом Пастера в Лилль (в сентябре 1854 г.), возобновляются в этом городе, где и был намечен план работ по изучению брожения, опрокинувших химические теории брожения Либиха и Берцелиуса и приведших его к утверждению, что «расщепление сахара на спирт и углекислоту — это факт, связанный с жизнедеятельностью самих организованных шариков — живых клеток» (доклад о брожении в Академии наук). У Пастера возникает вопрос, как вообще появляются эти живые клетки, и с 1860 г. он вплотную подходит к вопросу о самозарождении, возможность которого он отвергает, основываясь на многочисленных собственных наблюдениях.

Труд о Пастере весьма своевременно появился на русском языке. Рисуя образ Пастера, он заставляет обращаться к другому гению человечества — Павлову. Оба они, любя молодежь, верили в нее и в словах, обращенных к ней, высказывали одинаковые мысли. У Павлова в его замечательном письме к молодежи есть слова: «Приучите себя к сдержанности и терпению». «Научитесь делать черную работу в науке». «Изучайте, сопоставляйте, накопляйте факты». И дальше: «но, изучая, экспериментируя, наблюдая, старайтесь не оставаться у поверхности фактов. Не превращайтесь «в архивариусов» фактов. Настойчиво ищите законы, ими управляющие». Почти с теми же советами обращается и Пастер к молодежи: «Сопоставляйте факты, чтобы найти идеи». «Остерегайтесь главным образом чрезмерной поспешности, диктуемой желанием скорее подвести итоги». «Будьте придирчивы и упорны по отношению к самим себе и всегда старайтесь сами найти ошибки».

«Не давайте гордыне овладеть вами,— продолжает дальше Павлов,— из-за нее вы будете упорствовать там, где нужно согласиться, из-за нее вы откажетесь от полученного совета». У Пастера можно найти почти то же самое. При открытии института (его имени) он обращается к своим сотрудникам и своим молодым ученикам. «Не утверждайте ничего, что вы не могли бы доказать просто и определенно. Уважайте критику. Критика сама по себе не может ни породить живых идей, ни стимулировать на великие дела. Однако она помогает добиться истины. За ней всегда остается последнее слово.

«Верить, что ты установил великий научный факт, гореть желанием рассказать о нем и в течение дней, недель, месяцев, а иногда и лет бороться с самим собой, стараться самому опровергнуть свои собственные опыты, наконец, поведать о своем открытии только после того, как исчерпаны все возможные возражения. Это трудная задача».

Хотелось бы указать еще на одну черту Пастера, о которой упоминает Валлери-Радо. «Пастер интересовался и литературой. Мало было таких книг, которые оставили бы его равнодушным. Часто какой-нибудь литератор, уверенный, что для Пастера не существует ничего на свете, кроме колб и реторт, поражался его рассуждениями о том или другом произведении. Соглашался ли Пастер или критиковал, он всегда формулировал, не заботясь ни о чем, кроме истины. «Извините мою прямоту,— пишет он одному начинающему писателю, допустившему в своем произведении фантазии, свойственные бульварной литературе,— не кажется ли Вам, что Ваша родина особенно нуждается в том, чтобы молодежи указывались новые пути, чтобы ей говорили о серьезном труде, о морали, о поэзии. Литература должна вызывать глубокие и прочные изменения в направлении мысли всего народа».

Книги о таких людях и с такими высказываниями всегда нужны и полезны. Описания жизни таких великанов, как Пастер, Павлов, Мечников, поучительны и необходимы, они вызывают здоровый оптимизм и стремление проявить себя.

Приветствуя появление этой книги, нельзя, однако, пройти мимо некоторых ее слабых мест.

Известно, какое большое участие приняла лучшая часть русской медицинской общественности в пропаганде пастеровских прививок (в противовес немецким ученым). Нельзя нам забывать, что первыми после Пастера (в Париже) начали иммунизацию против бешенства по инициативе широких общественных кругов русские; только 1 марта 1886 г. Пастер выступил в Академии наук со своими тремя знаменитыми тезисами относительно иммунизации против бешенства, а уже в декабре 1885 г., т. е. за несколько месяцев до опубликования Пастером его знаменитых положений, к нему из Петербурга выехал, как рассказывает В. Г. Ушаков, врач Н. А Круглевский, а в феврале 1886 г.— Н. Ф. Гамалея. Первая в мире станция по прививкам против бешенства была организована в Одессе, а затем в том же 1886 г. в Варшаве, Самаре, Петербурге и Москве. Больше чем обидно, что в своей книге Валлери-Радо не пишет ничего о русских работах по борьбе с бешенством, хотя тот же Валлери-Радо в книге «История одного ученого», о которой мы уже писали, называет имена и Я. Ю. Бардаха и Н. Ф. Гамалея.

Об этом не упоминает Валлери-Радо, не упоминает и редактор перевода Н. А. Красильников, так же как не упоминает последний и о работах русских (Ценковского, Скадовского, Бардаха) по распространению и популяризации противосибиреязвенной вакцины. В русском переводе, в предисловии редактора об этом нужно было бы упомянуть.

Против идеи о самозарождении у нас выступал талантливейший М. М. Тереховский. В 1775 г. он защитил в Страсбурге диссертацию на тему «De Chao infusorium Linnaei», в которой доказывал отсутствие самозарождения. О ней Пастер не знал, хотя был профессором химии в этом городе с 15.1.1849 г. до сентября 1854 г. Не знал о ней и Валлери-Радо, но мы-то об этой книге не должны забывать, тем более, что Институтом истории естествознания Академии Наук СССР была выпущена прекрасная монография С. Л. Соболя «История микроскопа», в которой приводится целиком диссертация М. М. Тереховского (в переводе В. О. Гореншейна и С. Л. Соболя), и об этом редактор русского перевода книги Валлера-Радо должен был упомянуть. Неправильно утверждение редактора и о том, что Самойлович открыл возбудителя чумы (да и не мог найти при тогдашней методике исследования и при использовании микроскопа Деллабара). Даже больше, Самойлович не только не нашел

живого возбудителя, в противовес утверждению редактора, но и думал, «что яд язвенный не имеет никаких пресмыкающихся и ничего того, что оному приписывали многие врачи древних и новых времен», причем в примечании Самойлович утверждает «что никаких насекомых через микроскоп не усмотрено, и что существо (сущность.— *Г. В.*) язвенного яда есть совсем особливого рода». (Цитировано по подлиннику «Краткое описание микроскопических исследований о существе яда язвенного, которое произзодил в Кременчуге Данило Самойлович». Избранные произведения Д. Самойловича, изданные Академией медицинских наук в 1949 г., стр. 63—64).

Можно очень спорить и против значительных сокращений. Книга «Жизнь Пастера» содержит приблизительно 40 авторских листов, русский текст — около 23, а так как рецензируемая книга едва ли будет выпущена в скором времени повторным изданием, то хотелось бы иметь ее без купюр, полностью. Правда, некоторые из этих купюр могут быть и оправданы, но другие совершенно непонятны. Непонятно, например, почему выброшены интереснейшие десять страниц, посвященных истории борьбы с бешенством (глава XII), в которых Валлери-Радо дает сводку всего того, что было сделано до Пастера для предохранения от водобоязни. В выпущенной части текста приводятся и очень важные наблюдения Пастера о том, что бешенство у собак не сопровождается водобоязнью и, кроме того, что бешенство никогда не возникает спонтанно. Из главы IV выброшен интересный абзац, в котором доказывается, что без теории «практика обращается в рутину». Всего лишь одна страница, а ведь в этой странице и блестящая апология науки и обоснование связи науки и практики, и отрицание разделения наук на практические и теоретические. Нужно было очень много подумать, прежде чем решиться на это сокращение.

Перевод книги в общем исключительно хорош (переводчик А. Н. Калитиевская), но можно сделать некоторые упреки и по поводу перевода.

Не к чему было «Ecole normale», «Ecole polytechnique» переводить словами «Эколь нормаль» и «Эколь политекник»,— гораздо естественнее писать «Нормальная школа», «Политехническая школа». Об этих учебных заведениях, связанных с историей просвещения во Франции, русский читатель знает и по другим книгам, и именно под этими русскими названиями.

На стр. 16 мы читаем (письмо молодого Пастера родителям из коллежа Франш-Конте): «Если мы пойдем с тобой к Дона, не надо говорить с ним об «Эколь нормаль». В тексте же (да и по смыслу оно должно быть так) говорится совершенно иное: «Si nous allons voir M. Daunas, nous lui parlerons de l'Ecole normale», т. е. «Если мы увидимся с М. Дона, то поговорим с ним о Нормальной школе»; может быть это опечатки?

Есть более неприятные и неоправдываемые пропуски. На стр. 279 (русский текст) мы читаем: «Пастер полагал, что вирулентность этого микроба настолько велика, что для того, чтобы убить курицу, достаточно ничтожного количества культуры, нанесенной на хлебные крошки». Здесь в переводе пропущено только одно слово — récente — свежей (во французском тексте оно имеется). Микробиологу, особенно изучавшему историю открытий Пастера, этот пропуск бросается в глаза. Так, вводя крошки хлеба не со «свежей», а с многодневной культурой, можно получить совершенно другой результат: вместо всегда смертельного заболевания куриной холерой наступит иммунитет, что и случилось с Пастером, когда случайно цыплятам была дана «несвежая» культура.

Можно предъявить и еще одну претензию, то ли к редактору, то ли к издательству. Книга Валлери-Радо является источником для изучения истории микробиологии; хотелось бы иметь возможность без труда найти в ней и имена ученых и даты событий. У Валлери-Радо нет ни предметного указателя, ни именного, однако по подробному оглавлению можно легко ориентироваться при отыскании тех или других фактов и событий. Наше издательство тоже не дало ни именного, ни предметного указателя. Но оно пошло дальше — сократило оглавление, выпустив имеющееся во французском тексте содержание и оставив только даты; Глава I — 1822—1843. Главы II — 1844—1849 и т. д. Это, конечно, позволило сэкономить бумагу, так как французский текст оглавления занимает 6 страниц, а наш полстранички. Но эта экономия бумаги вызывает большую потерю времени у изучающего, особенно при отсутствии указателей, которые так легко можно было составить для русского издания.

Здесь, попутно разбирая труд французского писателя о Пастере, можно и нужно коснуться еще одного вопроса. В 1926 г. вышла в свет написанная О. Н. Мечниковой книга «Жизнь Ильи Ильича Мечникова», которая имеет огромное значение для нас. Она является источником для изучения и творчества Мечникова, и определенной эпохи в истории русской науки и культуры. Но книга эта вышла одним единственным изданием, она стала уже библиографической редкостью, тем более, что тираж ее был всего 8000 экземпляров. Нам кажется, что уже давно пора переиздать ее, снабдить рядом комментариев.

Читатель найдется и среди специалистов и среди неспециалистов. Эта книга нужна и молодежи как призыв к работе, проникнутый действенным оптимизмом.

Г. М. Вайндрах

ХРОНИКА

ВСЕСОЮЗНАЯ КОНФЕРЕНЦИЯ ПО НАПРАВЛЕННОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ И СЕЛЕКЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ

С 29 ноября по 1 декабря 1951 г. в Москве проходила Всесоюзная конференция по направленной изменчивости и селекции микроорганизмов, созванная Институтом микробиологии АН СССР.

Проблема направленной изменчивости микроорганизмов является одной из важнейших проблем современной микробиологии. Этим объясняется тот большой интерес, который был проявлен к данной конференции со стороны широких слоев специалистов, работающих в разнообразных отраслях микробиологии: общей, технической, сельскохозяйственной, медицинской и ветеринарной.

В работе конференции приняли участие представители учреждений Академии Наук СССР, академий наук союзных республик, Академии медицинских наук, Академии сельскохозяйственных наук им. Ленина, а также учреждения и предприятия Министерства здравоохранения, Сельского хозяйства, Высшего образования и других ведомств.

Общее количество участников совещания превышало 800 человек; представляли они около 200 учреждений.

На конференции были заслушаны и обсуждены следующие доклады:

1. Чл.-корр. АН СССР А. А. Имшенецкого — «Изменчивость и селекция микроорганизмов».
2. Академика ВАСХНИЛ С. Н. Муромцева — «Проблема видообразования у микроорганизмов».
3. Проф. В. Д. Тимакова — «Направленная изменчивость микроорганизмов».
4. Н. Д. Иерусалимского — «О принципах и методах сохранения полезных свойств микроорганизмов при селекции».
5. Проф. Г. П. Калины — «Вегетативная гибридизация и направленная изменчивость у микроорганизмов».
6. Проф. Ф. Т. Гринбаума — «Изменчивость патогенных микробов в зависимости от условий существования».

В докладе А. А. Имшенецкого были подведены итоги работам в области направленной изменчивости и селекции, выполненным у нас за последние годы, дан критический анализ существующим в этой области направлениям и намечены наиболее перспективные пути дальнейшего развития исследований по направленной изменчивости микроорганизмов. Одновременно в докладе была отмечена необходимость резкого усиления работ по созданию практически ценных форм микробов.

Докладчик показал, что исторические решения августовской сессии ВАСХНИЛ 1948 г. оказали исключительно благоприятное влияние на развитие советской микробиологии. Руководствуясь основными положениями передовой мичуринской биологической науки, советские микробиологи добились серьезных успехов.

В своем докладе А. А. Имшенецкий подверг критике реакционные, метафизические концепции сторонников вейсманзма-морганизма в области микробиологии. Он показал неприемлимость мутационизма и теории «спонтанной» изменчивости, как теорий, отрицающих формообразующую роль внешней среды и противоречащих накопившимся в микробиологии фактическим данным.

Для советских микробиологов неприемлемы также ошибочные положения так называемой теории «диссоциации» в трактовке циклогенистов, как теории, противоречащей идеям развития.

Для получения практически ценных форм микроорганизмов существуют различные методы. Полезные формы могут быть выделены из природы. Они могут быть селекционированы из производства. Они могут быть получены экспериментальным путем.

А. А. Имшенецкий считает, что из указанных методов для советских микробиологов ведущим является метод получения необходимых форм микробов путем направленной переделки их природы.

Основные положения мичуринской биологии об единстве организмов и необходимых для их жизни условий существования и о возможности наследования приобретенных признаков и свойств являются руководящими при осуществлении направленной изменчивости микроорганизмов. В докладе А. А. Имшенецкого был приведен экспериментальный материал о связи, существующей между изменением морфологических

и физиологических свойств. Пользуясь морфологическими признаками, можно в ряде случаев облегчить селекцию микроорганизмов.

Путем выращивания микроорганизмов в определенных заданных условиях удается вызвать у них адэкватные этим условиям изменения, передающиеся стойко по наследству.

Одним из методов изменения микроорганизмов адэкватно условиям жизни является метод «наведения» новых свойств (вегетативная гибридизация) при помощи фильтратов культур других микроорганизмов или веществ, выделенных из клеток микробов. Пользуясь этими методами, ряд советских ученых добился серьезных успехов.

Одной из важнейших задач, стоящих перед микробиологами, является усиление исследований в области углубленного изучения обмена веществ с целью овладения методами направленного изменения определенных физиологических и биохимических свойств микробов и получения форм с новыми биохимическими свойствами. Убедительные доказательства в пользу перспективности метода «наведения» были приведены в докладах В. Д. Тимакова и Г. П. Калины, которые доложили конференции результаты многолетних исследований, выполненных ими совместно со своими сотрудниками по направленному изменению микроорганизмов.

В. Д. Тимакову удалось доказать, что путем выращивания кишечной палочки на средах, содержащих в качестве единственного источника азотистого питания убитые клетки паратифозной палочки или их «полные» антигены, удается этот микроб превратить в новую форму, которая обладает всеми свойствами (антигенными, серологическими, биохимическими и др.) возбудителя паратифа.

Этим же методом удается паратифозную палочку превратить в кишечную или вызывать направленные изменения у других видов микробов кишечно-тифозной группы.

Г. П. Калина в своем докладе о вегетативной гибридизации у микроорганизмов сообщил результаты своих работ по изучению взаимоотношений, создающихся между различными видами микроорганизмов при их совместном выращивании. В микробных ассоциациях, по данным докладчика, создаются условия, при которых одни виды занимают господствующее положение, другие подчиненное. Микробы, занимающие в ассоциации подчиненное положение, вынуждены приспосабливаться к изменившимся условиям среды, изменять свой обмен веществ соответственно обмену веществ преобладающей формы. В результате этого данный микроорганизм меняет свою антигенную структуру и патогенность и превращается в новую форму, обладающую всеми свойствами господствующей в ассоциации формы.

Г. П. Калина считает, что вегетативная гибридизация — явление широко распространенное в природе и имеющее большое значение.

Превращение микроба одного вида в другой может, по данным Г. П. Калины, происходить и при вынужденной ассимиляции ими продуктов распада других видов.

Работами В. Д. Тимакова и Г. П. Калины показана возможность превращения микробов одного вида в другой вид.

Специально вопросу о видообразовании у микроорганизмов был посвящен доклад С. Н. Муромцева.

На обширном микробиологическом материале докладчик показал правильность учения Т. Д. Лысенко о биологическом виде и видообразовании.

В своем докладе С. Н. Муромцев привел ряд данных, показывающих, что переходы одного вида микробов в другой имеют место и в настоящее время. Это явление, имеющее большое теоретическое и практическое значение, довольно широко распространено в природе и должно учитываться в нашей практической деятельности.

Вопросу об изменчивости патогенных микробов под влиянием макроорганизма, а также во внешней среде был посвящен доклад Ф. Т. Гринбаума.

Наиболее значительные изменения претерпевают патогенные микробы, когда они попадают в организм мало восприимчивый или иммунный к данной инфекции. Наоборот, в восприимчивом организме эти изменения слабо выражены. Этим автор объясняет известное явление, что из организма в начале заболевания выделяются преимущественно типичные формы возбудителя, а в период выздоровления — преимущественно атипичные. Следовательно, микроорганизмы под влиянием активной реакции макроорганизма вынуждены приспосабливаться к новым условиям и менять свою природу, свои наследственные свойства.

Особенно резко изменяют патогенные микроорганизмы свои свойства, когда попадают из организма во внешнюю среду. Эти изменения могут быть настолько значительны, что распознавать их становится зачастую невозможным.

Работами В. Д. Тимакова, Г. П. Калины и их сотрудников показана возможность перехода в условиях эксперимента кишечной палочки в дизентерийную, паратифозную, брюшнотифозную.

Однако в докладах по этому вопросу на конференции не нашло должного освещения эпидемиологическое значение этих переходов и не был, к сожалению, подробно обсужден вопрос о возможности этих переходов в организме человека или животного.

Известно, что при хранении в лабораторных условиях многие микроорганизмы теряют некоторые свои полезные свойства. Поэтому вопрос о методах сохранения ценных свойств микроорганизмов имеет весьма актуальное значение. Этому вопросу был посвящен доклад Н. Д. Иерусалимского. В своем докладе Н. Д. Иерусалимский

показал, что всякое изменение культуры микроорганизмов происходит всегда адэкватно условиям внешней среды. Если условия культивирования соответствуют обычным нормальным требованиям данной культуры, то она сколько-нибудь заметно не меняется. Наоборот, чем более необычными для данной культуры являются условия культивирования, тем более резкими будут изменения ее природы. При невозможности ассимиляции новых условий культура погибнет.

Для того чтобы сохранить нужные нам свойства культуры и усилить те или иные полезные ее свойства, необходимо выявить путем физиологического анализа специфические требования данной культуры, нужные для развития определенных ее свойств.

Выявив специфические требования для данной культуры, необходимо производить ее выращивание в этих условиях.

При подыскивании оптимальных условий культивирования должны учитываться возрастная изменчивость физиологических свойств и потребности микробов.

Кроме программных докладов, на конференции имело место большое число фиксированных выступлений, в которых сообщались результаты научно-исследовательской работы в области направленной изменчивости и селекции самых разнообразных групп микроорганизмов: бактерий, дрожжей и грибов.

Весьма интересный материал по направленной изменчивости у дрожжей был сообщен в выступлениях К. В. Косикова, П. Ф. Саенко, В. И. Кудрявцева, Е. И. Квасникова, Е. А. Плевако, Л. Г. Логиновой, А. И. Крючковой и др.

Р. В. Фениксова поделилась опытом получения путем «наведения» новых рас плесневых грибов с повышенной активностью амилолитических ферментов.

Выступления П. П. Глезеровой и А. С. Кривиского были посвящены вопросу о так называемой «диссоциации» у микробов.

А. Г. Кравченко доложил о результатах своих работ по изменчивости вирусов.

М. Н. Ротмистров сообщил результаты своих многолетних работ по направленной изменчивости маслянокислых бактерий. На конференции имели место многие другие интересные выступления. Эти выступления вместе со всеми докладами будут опубликованы в «Трудах» конференции, издание которых желательно осуществить как можно скорее.

С рядом замечаний критического характера и с критикой недостатков в работе конференции выступил ряд участников: И. Е. Глущенко, О. Б. Лепешинская и др.

Существенным недостатком в работе конференции И. Е. Глущенко считает обилие фиксированных выступлений.

Эти выступления отняли много времени и не дали возможности достаточно широко развернуть прения по программным докладам и фиксированным выступлениям.

Серьезным недостатком в работе советских микробиологов И. Е. Глущенко считает то, что недостаточно уделяется внимания разоблачению реакционной сущности вейсманизма-морганизма в области микробиологии.

О. Б. Лепешинская указала, что серьезным недостатком в работах по направленной изменчивости является то, что мало уделяется внимания углубленному изучению обмена веществ у микроорганизмов.

Не менее серьезным недостатком является то, что на конференции не были представлены работы по изучению роли живого вещества в происхождении, развитии и изменчивости микроорганизмов. Между тем исследования в этой области имеют существенное значение для работ по направленной изменчивости и видообразования у микроорганизмов.

Для микробиологической науки нашей страны конференция по направленной изменчивости и селекции микроорганизмов безусловно явилась важным событием. Она показала, что советские микробиологи, руководствуясь в своей деятельности передовой мичуринской наукой, добились существенных успехов. Конференция явилась демонстрацией превосходства передовой мичуринской биологии над реакционным вейсманизмом-морганизмом.

Одновременно конференция выявила наиболее существенные недостатки в работах по направленной изменчивости микроорганизмов и наметила пути их устранения.

Все эти вопросы нашли свое отражение в резолюции, принятой конференцией.

С большим подъемом участники конференции приняли приветствие любимому вождю советского народа, лучшему другу советских ученых И. В. Сталину.

Я. И. Раутенштейн

РЕЗОЛЮЦИЯ
ВСЕСОЮЗНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ ПО НАПРАВЛЕННОЙ ИЗМЕНЧИВОСТИ И СЕЛЕКЦИИ МИКРООРГАНИЗМОВ

Советские микробиологи, вооруженные марксистско-ленинской методологией, окруженные заботой партии, Советского правительства и лучшего друга советских ученых товарища Сталина, вместе со всем советским народом заняты мирным созидательным трудом, осуществлением Сталинского плана преобразования природы, созданием материально-технической базы коммунизма.

Вместе со всеми учеными нашей страны советские микробиологи отдают свои силы делу борьбы за мир во всем мире.

В то же время в капиталистических странах господствующие классы превращают науку в орудие эксплуатации народных масс, в орудие подготовки новых войн, в средство уничтожения культурных ценностей, накопленных человечеством тысячелетиями.

Мы, участники конференции по направленной изменчивости и селекции микроорганизмов, приветствуем обращение Третьей Всесоюзной конференции сторонников мира ко всем участникам движения в защиту мира во всех странах.

Мы горячо поддерживаем сталинскую миролюбивую внешнюю политику Советского правительства.

Мы призываем всех советских микробиологов и впредь бороться против поджигателей новой войны и беспощадно разоблачать все антинаучные человеконенавистнические теории зарубежных реакционных лжеученых — прислужников империализма.

Наша советская наука, как самая передовая наука, всегда служила и будет служить делу созидания, а не разрушения, служила и будет служить делу укрепления мирного международного сотрудничества и дружбы между народами.

Победа передовой мичуринской биологической науки в нашей стране над реакционным вейсманизмом-морганизмом способствовала коренному пересмотру всех основных проблем современной биологии, в том числе и микробиологии, и открыла перед советскими учеными широкие перспективы для творческой деятельности.

Основные положения мичуринской биологии о единстве организмов и необходимых для их жизни условий среды, о возможности наследования приобретенных признаков и свойств дали в руки советским микробиологам ключ к управлению природой организмов и показали пути изменения их в нужную для народного хозяйства сторону.

За годы, прошедшие после исторической августовской сессии ВАСХНИЛ в 1948 г., советские микробиологи, руководствуясь мичуринской биологической наукой, добились определенных успехов.

Выполнены новые исследования, показавшие, что изменением условий жизни микроорганизмов удается вызвать в них адэкватные изменения, стойко передающиеся по наследству. Путем направленного воспитания в соответствующих условиях удалось вывести ценные для практических целей культуры микробов. Подтверждено на микробиологических объектах учение Т. Д. Лысенко о видообразовании; показана возможность перехода под влиянием условий существования одного вида микроорганизмов в другой, что имеет не только теоретическое, но и большое практическое значение. Ввиду особой важности проблемы вида и видообразования конференция считает необходимым созвать для обсуждения этого вопроса специальное совещание.

Выдающиеся исследования О. Б. Лепешинской послужили стимулом к широкому развертыванию в нашей стране работ по неклеточным формам жизни.

Советские микробиологи накопили ценные фактические данные, подтверждающие большую роль неклеточных форм жизни микроорганизмов в их развитии и изменчивости.

Придавая большое значение вопросу дальнейшего изучения неклеточных форм жизни, конференция считает необходимым проведение в 1952 г. специального совещания по неклеточным формам жизни микроорганизмов.

Наряду с указанными выше несомненными достижениями в работе по направленной изменчивости и селекции имеются существенные недочеты, устранение которых необходимо для дальнейшего развития микробиологической науки.

Основной недостаток заключается в том, что масштаб и характер исследований по направленной изменчивости все еще отстают от запросов, которые предъявляет к ученым-микробиологам практика.

Мало еще разработаны методы быстрого получения практически ценных форм микроорганизмов. Работы по селекции часто еще носят эмпирический характер. Недостаточно интенсивно и глубоко изучаются физиология и биохимия микробов в связи с их направленным изменением. Остается еще много неизученного в вопросе об эффективных методах расшатывания наследственности у микробов и научно-обоснованных способах закрепления их полезных свойств. Вопрос о стадийности развития микроорганизмов, весьма важный для работ по направленной изменчивости, нуждается в более глубоких и всесторонних исследованиях. Все еще имеет место некритическое отношение к ошибкам в теориях циклогении и диссоциации. В исследованиях по «наведению» свойств и вегетативной гибридизации микробов остается много

неясных вопросов. Не выяснено биологическое значение происходящих при этом изменений и нет ясности в самой трактовке понятия вегетативной гибридизации микроорганизмов.

Работы по созданию новых отсутствующих в природе видов микроорганизмов, необходимых для здравоохранения и народного хозяйства, все еще не развернуты должным образом.

Руководящие положения мичуринской биологии о том, что «научное разрешение практических задач — наиболее верный путь к глубокому познанию закономерностей развития живой природы» (Лысенко), еще не нашло полного претворения во многих исследованиях.

Важнейшей задачей всех исследователей в области направленной изменчивости микробов является упорная работа над планомерным созданием нужных для народного хозяйства, медицины и ветеринарии новых форм микроорганизмов. При этом экспериментальное получение микроорганизмов с необходимыми свойствами должно быть основным методом в указанной работе.

Успешному разрешению этих задач должно способствовать глубокое изучение путей изменения наследственности конкретных групп микроорганизмов в природных условиях.

Работы по экспериментальному получению микроорганизмов с необходимыми свойствами должны быть дополнены селекцией культур из производства и работами по выделению полезных микроорганизмов из природы.

Конференция отмечает перспективность работ в области вегетативной гибридизации у микроорганизмов и призывает к углублению и детализации исследований в этой области.

Метод половой гибридизации у микроорганизмов, размножающихся половым путем (дрожжи), должен также более широко разрабатываться и использоваться для получения культур с необходимыми свойствами.

Конференция считает, что выявление связи, существующей между легко выявляемыми признаками (морфологическими, культуральными и др.) и практически ценными свойствами данных микробов, может значительно облегчить работу по отбору нужных культур. Необходимы дальнейшие исследования в этом направлении.

Конференция считает крайне необходимым усиление работ в области управления обменом веществ с целью овладения методом направленного изменения тех или иных функций и свойств микроорганизмов: бродильной активности, темпа размножения и роста, иммуногенных свойств, образования микробами ценных продуктов и т. д.

Серьезное внимание должно быть уделено исследованиям по изучению неклеточных форм и выяснению роли и значения их в происхождении, развитии и изменчивости микроорганизмов.

Наряду с этим должны быть также усилены исследования в области изучения стадийности развития микробов и выяснения биологического значения отдельных стадий.

Конференция считает необходимым проведение работ по детальному изучению цитохимических и морфологических изменений микробной клетки, связанных с процессом ее изменчивости.

Конференция считает допустимым применение в некоторых случаях сильнодействующих факторов для расшатывания консерватизма наследственности и для получения форм с нарушенным обменом, если такие формы необходимы для практических целей.

Конференция считает необходимым особо подчеркнуть, что исследования по изучению наследственности и ее изменчивости у микроорганизмов должны проводиться в тесной связи с практическими запросами медицины и народного хозяйства, и чем теснее будет эта связь, тем плодотворнее будут результаты научной работы.

В области изучения изменчивости патогенных микроорганизмов необходимо расширение работ по следующим вопросам:

а) экспериментальная разработка приемов получения авирулентных культур с высокими иммуногенными свойствами, необходимых для приготовления живых вакцин и других биопрепаратов,

б) разработка методов микробиологической идентификации патогенных микробов во внешней среде с учетом изменчивости их свойств в различных условиях обитания.

в) разработка методов микробиологической диагностики инфекционных заболеваний с учетом изменчивости свойств возбудителя под влиянием активной реакции макроорганизма.

Конференция призывает советских микробиологов выступать в печати с критикой зарубежных реакционных генетических теорий, в частности, направления, известного как биохимическая генетика, а также теории диссоциации в трактовке циклогенистов, как теории, отрицающей развитие.

Конференция выражает свою глубокую уверенность в том, что советские микробиологи, вооруженные самой передовой теорией — учением Маркса — Энгельса — Ленина — Сталина, будут еще более плодотворно для практики пользоваться и развивать мичуринскую биологию во всех областях микробиологии: общей, технической, сельскохозяйственной, медицинской, ветеринарной и внесут свой вклад в дело построения коммунизма в нашей стране.

К СЕМИДЕСЯТИПЯТИЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ ПРОФЕССОРА ГРИГОРИЯ ЛЬВОВИЧА СЕЛИБЕРА

18 февраля 1952 г. Ленинградское Микробиологическое общество совместно с Санитарно-бактериологическим обществом отметило 75-летие со дня рождения старейшего микробиолога нашей страны д-ра биологических наук проф. Григория Львовича Селибера.

В заседании, посвященном его научно-педагогической деятельности, состоявшемся во Всесоюзном институте экспериментальной медицины под председательством члена-корр. АМН СССР проф. А. А. Смородинцева, выступил ряд лиц, приветствовавших юбиляра и охарактеризовавших значение его работ для развития отечественной микробиологии.

Г. Л. Селибер принадлежит к той плеяде русских микробиологов, которые, обладая широкой эрудицией, охватили своей деятельностью весьма различные области микробиологии. Имя Г. Л. Селибера приобрело широкую известность прежде всего благодаря его выдающимся работам по изучению превращения жировых веществ под влиянием микроорганизмов. Его монография — «Образование и разложение жира микроорганизмами» — является настольной книгой для микробиологов и пользуется широкой известностью далеко за пределами нашей страны. Особенно большое внимание уделил Григорий Львович изучению процесса разложения жиров в анаэробных условиях. В ряде его работ, а также в совместных его работах с сотрудниками содержатся ценные данные о механизме превращения жира в отсутствие воздуха под влиянием десульфатирующих бактерий и о химической природе образующихся при этом промежуточных соединений.

Полученные данные позволили автору развить гипотезу о возможности непосредственного образования углеводородов путем декарбоксилирования жирных кислот и о вероятности синтеза углеводородов из групп CH_2, образующихся при действии водорода на углекислоту, являющихся промежуточными продуктами при разложении жирных кислот.

Указанные взгляды автора представляют глубокий теоретический интерес в связи с генезисом нефти и ждут своего экспериментального разрешения.

Не меньшее значение имеют многолетние работы Г. Л. Селибера с его сотрудниками в области изучения микроорганизмов мочки льна. Ими описаны новые формы возбудителей этого процесса и разработана технология применения заквасок из чистых культур.

Много работ Г. Л. Селибера посвящено также изучению дрожжей и молочнокислых бактерий в связи с хлебопекарным производством.

Основательное изучение физиологии и морфологии этих организмов позволило рекомендовать производству технологический процесс, основанный на применении заквасок из чистых культур.

Но этим далеко не исчерпывается круг научных интересов Г. Л. Селибера.

Его привлекают и такие общебиологические вопросы как пигментообразование у бактерий, роль микроорганизмов в круговороте веществ и др.

Большое место в его жизни занимала и педагогическая деятельность. В течение многих лет он состоял профессором Научного института имени П. Ф. Лесгафта.

Перу Г. Л. Селибера принадлежит прекрасный перевод биографии Пастера.

Наше правительство высоко оценило деятельность Г. Л. Селибера, наградив его орденом Ленина.

В день 75-летия юбиляр получил многочисленные поздравления из различных мест Советского Союза.

Л. Д. Штурм

К СЕМИДЕСЯТИПЯТИЛЕТИЮ СО ДНЯ РОЖДЕНИЯ И ПЯТИДЕСЯТИЛЕТИЮ НАУЧНО-ПЕДАГОГИЧЕСКОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ ЗАСЛУЖЕННОГО ДЕЯТЕЛЯ НАУКИ ПРОФЕССОРА Л. И. КУРСАНОВА

29 февраля текущего года общественность Биолого-почвенного факультета Московского ордена Ленина государственного университета имени М. В. Ломоносова вместе с биологами Москвы и других городов СССР отметила 75-летие со дня рождения и 50-летие научно-педагогической деятельности старейшего ботаника Московского университета заслуженного деятеля науки, доктора биологических наук проф. Льва Ивановича Курсанова.

Л. И. Курсанов родился 7 февраля 1877 г. в семье крестьянина. В 1896 г. поступил на естественное отделение физико-математического факультета Московского университета Избрав своей специальностью ботанику, Лев Иванович совершенствовался

в ней под руководством проф. И. Н. Горожанкина. В 1900 г., по окончании курса, Лев Иванович был оставлен при университете. Здесь, со свойственной ему энергией и неутомимым трудолюбием Л. И. Курсанов при помощи своих первых учеников воплотил в жизнь идею своего учителя И. Н. Горожанкина об организации лаборатории низших растений, ставшей после Великой Октябрьской социалистической революции кафедрой низших растений. В течение 34 лет Лев Иванович заведует этой кафедрой.

Первые работы Л. И. Курсанова в области низших растений имели сравнительно-морфологическое направление, включающее цитологию и эмбриологию. В этом направлении Львом Ивановичем были проведены многочисленные исследования, в которых впоследствии приняли участие многие его ученики. Ряд других работ проф. Курсанова был посвящен альгологическим объектам. Среди них можно назвать исследование полового процесса красной водоросли немалион, изучение цитологических особенностей прорастания зигот зеленой водоросли Zygnema, цитологическое исследование водоросли Chlorochytrium lemnae, обитающей на ряске (совместная работа с Н. М. Шемахановой) и работу о строении и делении ядер у Vaucheria. Впоследствии основное внимание Лев Иванович уделяет изучению грибов, имеющих актуальное значение для народного хозяйства.

В 1915 г. Л. И. Курсанов защищает в качестве магистерской диссертации капитальный труд на тему о морфологии и цитологии ржавчинных грибов. Этой важной группе грибов посвящен ряд последующих многолетних исследований Курсанова.

С конца 20-х годов Л. И. Курсанов значительное внимание уделяет изучению экологии, физиологии и биохимии грибов и выявлению взаимоотношений между грибом паразитом и высшим растением. Этим вопросам посвящен ряд работ, опубликованных им совместно с его учениками за период с 1928 по 1938 г.

Л. И. Курсанова всегда интересовала область практического использования грибов в народном хозяйстве. В 1933—1934 гг. им организуются специальные лаборатории по разработке методов защиты деревянных конструкций от гниения, работа которых под его руководством в течение семи лет сыграла в свое время важную для нашего народного хозяйства роль. Ряд лет Л. И. Курсанов руководил работами по изучению патогенных для человека и животных плесневых грибов.

Перу Л. И. Курсанова принадлежат работы и по многим другим вопросам микологии. В течение последних шести лет Лев Иванович большое внимание уделяет исследованиям в области антибиотиков и подготовке высококвалифицированных кадров для антибиотической промышленности.

О значении работ проф. Л. И. Курсанова для здравоохранения свидетельствует высокая оценка их Министерством здравоохранения в день его юбилея и многочисленные приветствия, полученные им от медицинских учреждений страны.

Особенно должна быть отмечена выдающаяся 50-летняя педагогическая деятельность Льва Ивановича. В Московском государственном университете им подготовлены сотни специалистов, работающих во всех концах Советского Союза. Л. И. Курсанова вправе считать своим учителем не только те микологи, которые специализировались при его кафедре, но и все микологи Советского Союза, так как капитальные руководства, созданные Львом Ивановичем, служат пособиями для биологов всех высших учебных заведений страны. Такими руководствами являются: созданный Л. И. Курсановым совместно с Н. А. Комарницким, вышедший в трех изданиях, курс низших растений; совместный с рядом соавторов учебник ботаники для педагогических вузов, выдержавший два издания и подготавливаемый к третьему; курс микологии, руководство по определению грибов из родов Penicillium, Aspergillus и, наконец, печатающийся в настоящее время обширный определитель низших растений.

Многолетняя плодотворная научно-педагогическая деятельность проф. Л. И. Курсанова высоко оценена нашим правительством, присвоившим ему звание заслуженного деятеля науки и наградившим его тремя орденами, из которых последним является орден Ленина, врученный ему в 1951 г.

В настоящее время проф. Л. И. Курсанов полон энергии и его кафедра попрежнему остается тем живительным источником знаний, научного вдохновения и поддержки исследовательской инициативы, которым она является уже многие годы для всех микологов нашей Родины.

З. Беккер

СОДЕРЖАНИЕ

Корифею науки, великому знаменосцу мира, зодчему коммунизма товарищу Сталину (приветствие товарищу Сталину от участников конференции по направленной изменчивости и селекции микроорганизмов) 137
Г. Г. Винберг и Т. Н. Сивко. Некоторые наблюдения над «зеленой бактерией» 139
В. Н. Шапошников, И. Л. Работнова, Г. А. Ярмола, В. М. Кузнецова и Н. Н. Мозохина-Поршнякова. О развитии бактерий за счет натурального каучука 146
Н. Д. Иерусалимский и Л. М. Лурье. Значение тиамина для образования ацетона гладким и лопастным вариантом Bac. acetoethylicus 155
Е. И. Квасников. Спиртоустойчивость молочнокислых бактерий 160
В. А. Алексеев. О фиксации атмосферного азота возбудителями мочки льна Granulobacter pectinovorum и Bac. felsineus 166
В. О. Калиненко. О строении Bacillus mycoides 171
А. С. Заславский. О выживаемости некоторых гнилостных и гноеродных микроорганизмов в стерилизованных термической обработкой фруктовых соках 172
О. Ю. Волкова. Антибактериальные свойства лечебных грязей и условия их формирования 177
П. Ф. Дьяченко и Т. Г. Романович. Бактерицидные свойства протаминов 185
В. Т. Бобович. Сухие культуры бактерий для борьбы с грызунами 187
А. П. Ордин. Антагонизм почвенных грибов из рода Penicillium по отношению к фитопатогенным бактериям 192
А. Н. Мамонтова. Получение высокоактивных антигрибных сывороток . . 200
У. Г. Оксентьян. Этиология черного бактериоза пшеницы 205
М. К. Хохряков. Специализация возбудителя инфекционного усыхания лимонов (Deuterophoma tracheiphila Petri) 210
В. И. Потлайчук. Род Nigrospora Zimm., его видовой состав и систематическое положение 219
Ю. М. Залесский. Применение плексигласа при изготовлении микроскопических препаратов 226
И. Е. Эльпинер. Ультразвуковые волны в микробиологии (Обзор) 228
М. В. Горленко. Выдающийся русский миколог и микробиолог И. Л. Сербинов 239
Рефераты 243
Критика и библиография 247
Хроника 250

Т-03429 Подписано к печати 25/IV 1952 г. Печ. л. 10,27+2 вкл.
Уч.-изд. л. 12,5 Формат бум. 70×108 1/16. Бум. л. 3 3/4. Тираж 5775 экз. Заказ 117

2-я типография Издательства Академии Наук СССР. Москва, Шубинский пер., д. 10.

Цена 12 руб.

К СВЕДЕНИЮ АВТОРА

Статьи, представляемые в редакцию, должны быть тщательно отредактированы в рукописи. Сообщаемые в статье результаты экспериментальных исследований должны быть изложены кратко и ясно, а в конце статьи должны быть выводы. Никакие исправления в корректуре против рукописи не допускаются.

Рукопись, в том числе и литература, должна быть четко переписана на машинке на одной стороне листа писчей бумаги с двумя интервалами. Объем представляемых работ, включая таблицы и литературу, не должен превышать 14—15 страниц, перепечатанных на машинке. С левой стороны листа должны быть оставлены чистые поля (3—4 см). В редакцию посылается первый, перепечатанный на машинке, экземпляр. Страницы рукописи должны быть перенумерованы единой нумерацией, включая основной текст, таблицы, литературу и т. д. Обозначение за одним номером нескольких страниц (например 21а, 21б) не допускается. В конце рукописи, обязательно должны быть ссылки. Подзаголовки таблиц должны быть краткими, но их необходимо писать полностью, без сокращений.

Таблицы должны находиться в соответствующих местах рукописи и в тексте на них должны быть ссылки. Подзаголовки таблиц должны быть краткими, но их необходимо писать полностью, без сокращений.

Количество иллюстраций должно быть минимальным, они должны быть совершенно отчетливыми и выполнены тушью на белой бумаге или на кальке. На полях рукописи указывается место рисунка, а в тексте на него дается ссылка. Фотографии печатаются только при абсолютной их необходимости, причем они должны быть контрастными и в черных тонах. На микрофотографиях должно быть указано увеличение, при котором произведен снимок.

На обороте каждого рисунка должны быть написаны простым карандашом: фамилия автора, заглавие статьи, номер рисунка и страница рукописи, к которой он относится. Подписи к иллюстрациям даются на особом листе с указанием номеров рисунков.

Статья должна содержать результаты собственных исследований автора и поэтому в ней разрешается приводить только очень краткие ссылки на литературу.

Приводить названия цитируемых работ в тексте статьи или в сносках нельзя. Вся литература должна быть сведена в особый список, помещаемый в конце статьи. Перечень литературы приводится в алфавитном порядке авторов и нумеруется; для русских и иностранных работ составляются самостоятельные алфавитные списки. Ссылаться на неопубликованные в печати работы и устные сообщения не разрешается.

Отдельные работы одного и того же автора располагаются в хронологической последовательности; в случае наличия у автора нескольких работ, изданных в одном году, они нумеруются строчными буквами алфавита (напр. 1927a; 1927b, 1927c).

В списках литературы должны даваться следующие данные: а) фамилия, б) инициалы, в) название работы, г) сокращенное общепринятое название журнала (для книги — место издания), д) том, страница и год.

Фамилии иностранных авторов при цитировании в статье в первый раз даются как на русском, так и на иностранном языке, а при дальнейших ссылках только на русском языке. Одновременно с фамилией цитируемого автора в скобках указывается его порядковый номер по списку литературы. Помещение в списке литературы всех цитируемых в статье работ — обязательно. Приводить в списке литературы работы, не упоминаемые в тексте, не разрешается.

Сокращение слов, имен, названий, как правило, не допускается. Разрешаются лишь общепринятые сокращения — различных мер, физических, химических и математических величин и терминов и т. п. Все меры должны даваться в метрической системе, а температура по шкале Цельсия.

Рукописи, оформленные без соблюдения настоящей инструкции, будут возвращаться авторам для исправления.

Если автор в связи с вносимыми исправлениями задержит рукопись свыше одного месяца, статья будет считаться в дальнейшем как поступившая вновь.

Редакция